

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire présenté par
Hadjeres Nadjiya

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : **Chimie des produits Naturels**

Titre :

**Analyse et contrôle de qualité de tabac
par spectrométrie ATR- IRTF**

Soutenu publiquement le 12 septembre 2019 devant le jury composé de

B. KADRI	MCA	Président	Université Blida 1
G. ZIANE	MAA	Examinatrice	Université Blida 1
Y. DAGHBOUCHE	Pr	Promoteur	Université Blida 1

Promotion 2018-2019

Remerciement

Je remercie, du plus profond de mon cœur, Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Je tiens à remercier d'abord ma promotrice, **Pr. DAGHBOUCHE. YASMINA**

Pour avoir dirigé mon travail, pour son aide et ses orientations.

Je remercie vivement tous les enseignants de la faculté des sciences du département de chimie qui m'ont encadré durant mon cycle de formation.

Et un grand merci pour **Dr. TOUAFEK.O** responsable de la formation du master chimie de produit naturel, **Pr. EL HATTAB.M** et **Pr. BADIS.A** pour toutes les informations et les conseils.

Je remercie, très chaleureusement la doctorante **BENSEMMANE NACHIDA** au niveau du laboratoire de chimie des substances naturelles et de biomolécules pour sa disponibilité, ses conseils et son aide durant mon travail

Je tiens également à remercier les membres De jury:

Mme. ZIANE G, Mr. KADRI. B.

Je remercie **Mr. BOUCETA ADAL**, qui travaille dans l'industrie de tabac pour toutes les informations et l'aide fournies, que Dieu vous bénisse.

Je remercie mes amies :

AMINA, SELMA, LILA, MADINA, AMEL, HANANE, ZAHRA,

KHAOULA, CHAIMA, DJEMAA, NABILA.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui m'ont aidé, à un titre ou un autre, qu'il s'agisse de la fourniture d'informations précieuses, ou de conseils.

Un grand merci à tous

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, pour leurs sacrifices, leurs encouragements et leurs soutiens, eux qui m'ont guidé durant toutes mes années d'études vers le chemin de la réussite

«Maman, Papa merci »

A qui j'ai partagé avec eux tous les moments de ma vie :

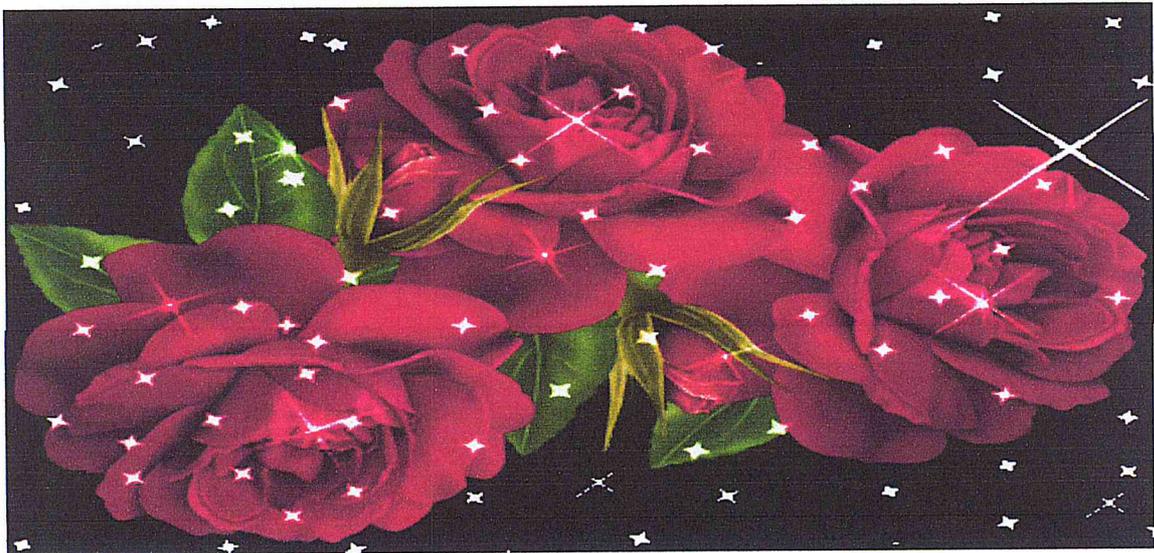
Mes très chers frères : Samir et Rafik et Radouane

Aux deux familles : HADJERES et AMIRA

A mon mari : ZOUIR

A tout mes amies : Amina, Nabila, Amel, Selma, Hanane.

A tout la promotion de la chimie de produit naturel 2018/2019.



NADJIYA

Résumé

L'objectif assigné à ce travail est de développer, d'une méthode d'analyse simple, rapide, et disponible pour le contrôle de la conformité et de la qualité de tabac à chiquer commercialisés au niveau du marché national. Pour cela, nous avons réalisé une série d'analyses physico-chimiques ainsi qu'une caractérisation par spectrométrie ATR-IRTF.

Les résultats de la spectrométrie ATR-IRTF ont révélé les différences spectrales des échantillons commerciaux de tabac permettant la détection des différents types de fraudes comme la chaux, l'espèce utilisée dans la fabrication du tabac à chiquer traditionnel, et les cendres, ainsi que le classement des échantillons commerciaux dans des groupes similaires présentant la même formulation.

Au travers de l'analyse des échantillons par les différentes méthodes réalisées au sein de notre laboratoire, nous avons réussi à construire un profil infrarouge global pour le tabac à chiquer commercialisé ainsi que vérifier sa conformité par rapport à la seule marque agréée par l'état.

Mots clés : Tabac à chiquer, feuilles de tabac industriels, cendre, ficus carica L, fraude, Spectroscopie ATR-IRTF.

Abstract

The objective assigned to this work is to develop a simple, fast and available method of analysis for the control of conformity and quality of chewing tobacco on the national market. For this, we carried out a series of physico-chemical analysis as well as a characterization by ATR-IRTF spectrometry.

The result of the ATR-IRTF spectrometry have revealed the spectral difference of commercial tobacco sample for detecting different types of fraud such as lime , the species used in the manufacture of traditional chewing tobacco, and the ashes, and classifying commercial samples into similar groups with the same formulation.

Through the analysis of the samples by the different methods carried out in our laboratory, we have succeeded in constructing a global infrared profile for the chewing tobacco marketed as well as verifying its conformity with respect to the only mark approved by state.

Key words: Chewing tobacco, industrials tobacco leaves, censed, ficus caracal, fraud, ATR-IRTF Spectroscopy.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير طريقة تحليل بسيطة و سريعة و متاحة للتحكم في مراقبة و نوعية الشمة التي يتم تسويقها على مستوى السوق الوطنية . من أجل ذلك أجرينا سلسلة من التحليلات الفيزيائية و الكيميائية بالإضافة إلى توظيف الطيف ATR-IRTF.

كشفت نتائج قياس طيف ATR-IRTF عن الاختلافات الطيفية للعينات التجارية للتبغ مما يسمح باكتشاف أنواع مختلفة من الاحتياال مثل الجير, و النبتة المستخدمة في الصناعة التبغ, و الرماد , وكذلك تصنيف العينات التجارية في مجموعات متماثلة لها نفس الصيغة.

من خلال تحليل العينات بالطرق المختلفة التي يتم تنفيذها داخل المخبر تمكننا من بناء ملف تعريف عالمي للأشعة تحت الحمراء; للتحقق من مطابقتها بالنسبة للمادة التي يتم اقتناؤها كعلامة تجارية معتمدة من قبل الدولة.

الكلمات المفتاحية : الشمة , أوراق التبغ الصناعية , الرماد , الكرمة الحرة, الاحتياال , مطيافية الأشعة تحت الحمراء .

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
01	Quelques exemples (non exhaustifs) d'humectants	15
02	Quelques exemples d'aromatisants	16
03	Les différents échantillons de cette étude	37
04	pH des différents échantillons de cette étude	38
05	Valeurs d'absorbance aux différentes bandes des échantillons commerciaux de tabac à chiquer par ATR-IRTF en considèrent le mode R (absorbance corrigée avec une ligne de base adéquate)	46
06	Valeurs de l'aire aux différentes bandes des échantillons commerciaux de tabac à chiquer par ATR-IRTF en considèrent le mode B (aire de pic à une fréquence donnée entre deux points sélectionnés)	47
07	Valeurs de l'aire aux différentes bandes des échantillons commerciaux de tabac à chiquer par ATR-IRTF en considèrent le mode H (aire de volet gauche d'une fréquence donnée entre deux points sélectionnés)	48
08	Taux des principaux groupements fonctionnels des différents échantillons commerciaux de tabac à chiquer, en utilisant le mode R.	49

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Nicotiana tabacum	3
02	Structure chimique de la Nicotine	12
03	Structure chimique de la Cotinine	12
04	Structure chimique de la Nornicotine	13
05	Structure chimique de la acide chlorogénique	14
06	Un système d'ATR-IRTF de réflexion multiple.	32
07	Mode d'échantillonnage ATR-IRTF	36
08	pH de différents échantillons du tabac à chiquer	38
09	Taux d'humidité dans les échantillons commerciaux de tabac à chiquer par gravimétrie	39
10	Teneur en cendre de tabac à chiquer par gravimétrie	40
11	Spectres IRTF des 12 échantillons commerciaux de tabac à chiquer dans CH ₂ Cl ₂	41
12	Spectres IRTF des feuilles de tabac industriels dans CH ₂ Cl ₂	41
13	Spectres IRTF des cigarettes dans CH ₂ Cl ₂	41
14	Spectres IRTF des additifs dans CH ₂ Cl ₂	42

15	Spectres ATR-IRTF des deux échantillons de tabac à chiquer de la marque agréée A01 « bleu » et A02 « rouge »	43
16	Spectres IRTF de tabac à chiquer A01 sèche « bleu » et A01 humide « rouge »	43
17	Les trois modes d'intégration utilisés	44
18	Spectres ATR-IRTF des différents échantillons commerciaux (A01-A12) de tabac à chiquer	45
19	Spectres ATR-IRTF des échantillons de tabac à chiquer A02 « bleu » et A05 « rouge » et A10 « violet »	51
20	Spectres ATR-IRTF de tabac à chiquer A06 « bleu » et A09 « rouge »	51
21	Spectres ATR-IRTF de la marque agréée « A01 » et de la chaux	52
22	Spectres ATR-IRTF du tabac à chiquer A07 et feuille PTCA et ficus carica L, ficus carica	53
23	Spectres ATR-IRTF du tabac à chiquer commerciales (E.C) et les cendres	53
24	Spectres ATR-FTIR du tabac à chique A11, des cendres et ficus carica L	54
25	Spectres ATR-FTIR du tabac à chique commerciales et la formulation « Préparé »	55
26	Spectres ATR-FTIR du glycérol (bleu) du sucre (rouge), et échantillon A04 (violet)	56
27	Spectre ATR-IRTF d'échantillon A12 « rouge » et reconstitution « bleu »	56
28	Spectre ATR-IRTF d'échantillon A02 et reconstitution	57
29	Spectres ATR-IRTF du tabac à chiquer A01 et des différentes feuilles de tabac industrielles.	57

30	Spectres ATR-IRTF les feuilles de tabac industrielles et cigarette	58
31	Spectres ATR-IRTF de feuille de tabac (C.H.C.B.F.04) « bleu » et la C.N « rouge »	58
32	Spectres ATR-IRTF de feuille de tabac TVES « bleu » et la C.M.N « rouge »	58
33	Présentation graphique des taux principaux groupement fonctionnels des différents échantillons commerciaux de tabac à chiquer en utilisant quant 2	59-61

Liste des abréviations

N. tabacum	Nicotiana tabacum
AC	Acide chlorogénique
SNP	Système nerveux périphérique
SNC	Système nerveux central
RSD	Déviatiion standard relative
L.D	Limite de détection
L.Q	Limite de quantification
m	Mètre
g	Gramme
μl	Microlitre
ml	Millilitre
H ₂ O	Eau
HCl	Acide chlorhydrique
H ₂ SO ₄	Acide de sulfurique
CH ₂ Cl ₂	Dichlorométhane

Min	Minute
M.V	Matière végétale
CG – SM	Chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse
CLHP – UV	Chromatographie Liquide à Haute Performance –ultraviolet
M.V. F	Matière Végétale Fraiche
IRTF	Infrarouge à Transformée de Fourier
CHCl ₃	Chloroforme
NH ₃	L'Ammoniac
ATR-IRTF	réflexion totale atténuée - Infrarouge à Transformée de Fourier
N.b	Nom binominal
ACN	Acétonitrile (C ₂ H ₃ N)
KBr	Bromure de potassium

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse Bibliographique	
I. Présentation de la plante « Nicotiana tabacum »	
I.1. Origine et définition	3
I. 2.Description.....	3
I.3.Classification botanique.....	4
I. 4.Biologie et écologie.....	4
I. 5.Utilisation traditionnelle du tabac.....	4
I.5.1.Utilisation récréatives des différents types de tabac	5
I.5.2.Autres utilisations du tabac	8
I. 6.Fabrication de tabac	9
II. Composition chimique de tabac et propriétés phyto-chimiques	
II.1. Composition chimique de tabac	
II.1.1. Feuille de tabac	
II. 1.1.1. Alcaloïde de tabac.....	11
II. 1.1.2.Les composés phénolique	13
II.1.1.3. Acide chlorogénique.....	14
II.1.1.4. Hydrate de carbone	14
II.1.2. Additifs de tabac	
II.1.2.1. Humectant.....	15
II.1.2.2. Aromatisants	15
II.1.2.3. Agents de combustion.....	16

II. 2. Propriétés phyto-chimique de tabac

II.2.1. Activités pharmacologiques	17
--	----

III. Protocole d'analyse du tabac et des produits du tabac

III.1. Méthodes officielles d'analyse du tabac et des produits de tabac.....	19
--	----

III.2. Les travaux de recherche réalisés antérieurement sur l'analyse de la nicotine dans le tabac et produits du tabac	22
---	----

IV. analyses qualitative par spectroscopie IRTF et ATR-IRTF

IV.1. Potentiel de la spectroscopie IRTF pour l'analyse qualitative.....	31
--	----

IV.2.1. Définition de réflexion total atténuée (ATR-IRTF).....	31
--	----

IV.2.2. Principes d'ATR-IRTF	31
------------------------------------	----

Chapitre II : Partie Expérimentale

I.1. Analyse physico- chimique de tabac

I.1.1. pH- mètre

I.1.1.1. Principe	33
-------------------------	----

I.1.1.2. Appareil utilisés	33
----------------------------------	----

I.1.1.3. Réactif	33
------------------------	----

I.1.1.4. Mesure du pH	33
-----------------------------	----

I.1.2. Taux d'humidité

I.1.2.1. Principe	34
-------------------------	----

I.1.2.2. Mode opératoire	34
--------------------------------	----

I.1.2.3. Méthode de calcul	34
----------------------------------	----

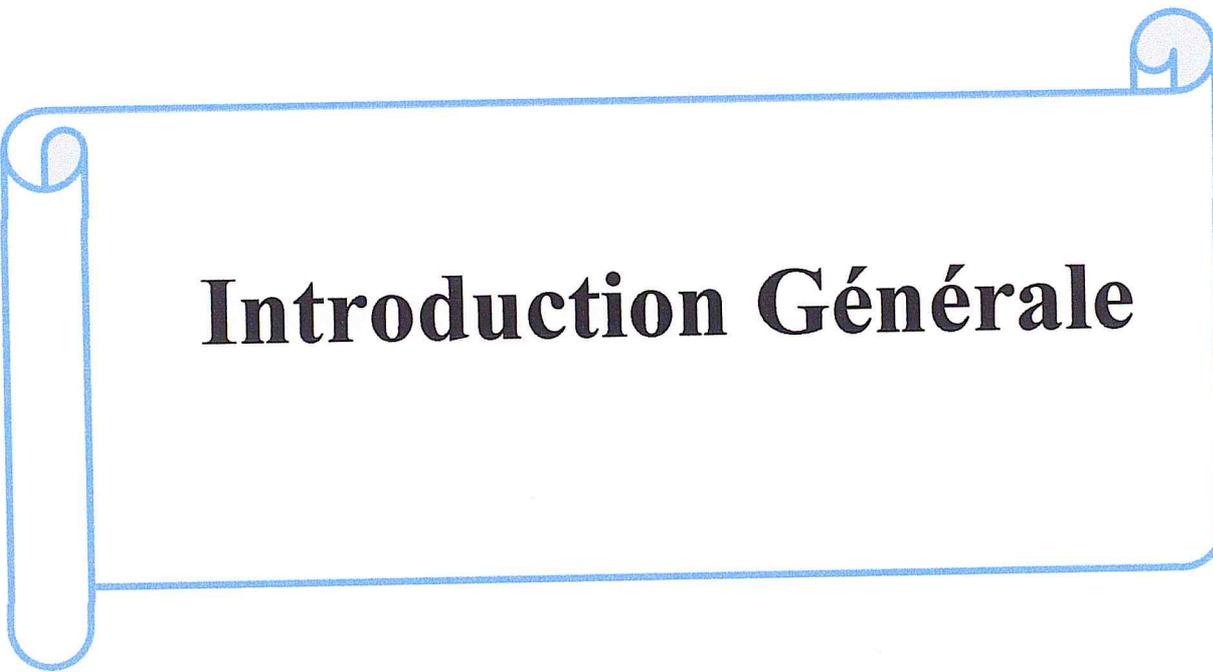
I.1.3. Teneur en cendre

I.1.3.1. Mode opératoire	34
--------------------------------	----

I.1.3.2. Méthode de calcul	34
----------------------------------	----

II.2. Analyse par spectroscopie des différents échantillons de cette étude

Conclusion	63
Références bibliographiques.....	65
Annexe.....	68



Introduction Générale

Introduction générale

Devant la libération de l'économie nationale et un régime répressif inefficace, la fraude est devenue un phénomène qui prend une place de plus en plus importante dans le secteur industriel et ce, par la mise sur le marché de produits délibérément modifiés ou avec de fausses indications pour optimiser les coûts, ce qui implique la vente de produits impropres à la consommation et potentiellement dangereux.

En Algérie, la production et la commercialisation des produits du tabac comme les cigares, les cigarettes, les cigarillos, le tabac à mâcher ou le tabac en feuilles sont caractérisées, d'un côté, par une compétitivité des produits provenant de plusieurs pays, avec un marché en constante croissance et, d'un autre côté, par l'apparition d'un marché en parallèle de produits du tabac délibérément truqués qui ont pris le monopole au détriment des produits agrémentés.

Les tabacs à mâcher et à priser, ont pris le relais du tabac à fumer car sont souvent considérés par leurs consommateurs comme un substitut discret, par conséquent, leur consommation par les jeunes algériens âgés de 14 à 24 ans est en croissance frappante, d'où le contrôle de ces produits est plus qu'indispensable.

En tant que produits d'agrément, les articles de tabac sont soumis à la loi sur les denrées alimentaires et doivent, par conséquent, être analysés conformément à cette loi. Au niveau international sont notamment importantes les directives de l'ordonnance allemande sur le tabac (OTab) ainsi que la liste ACAC qui correspond aux standards du CORESTA (Centre de Coopération pour les Recherches Scientifiques Relatives au Tabac).

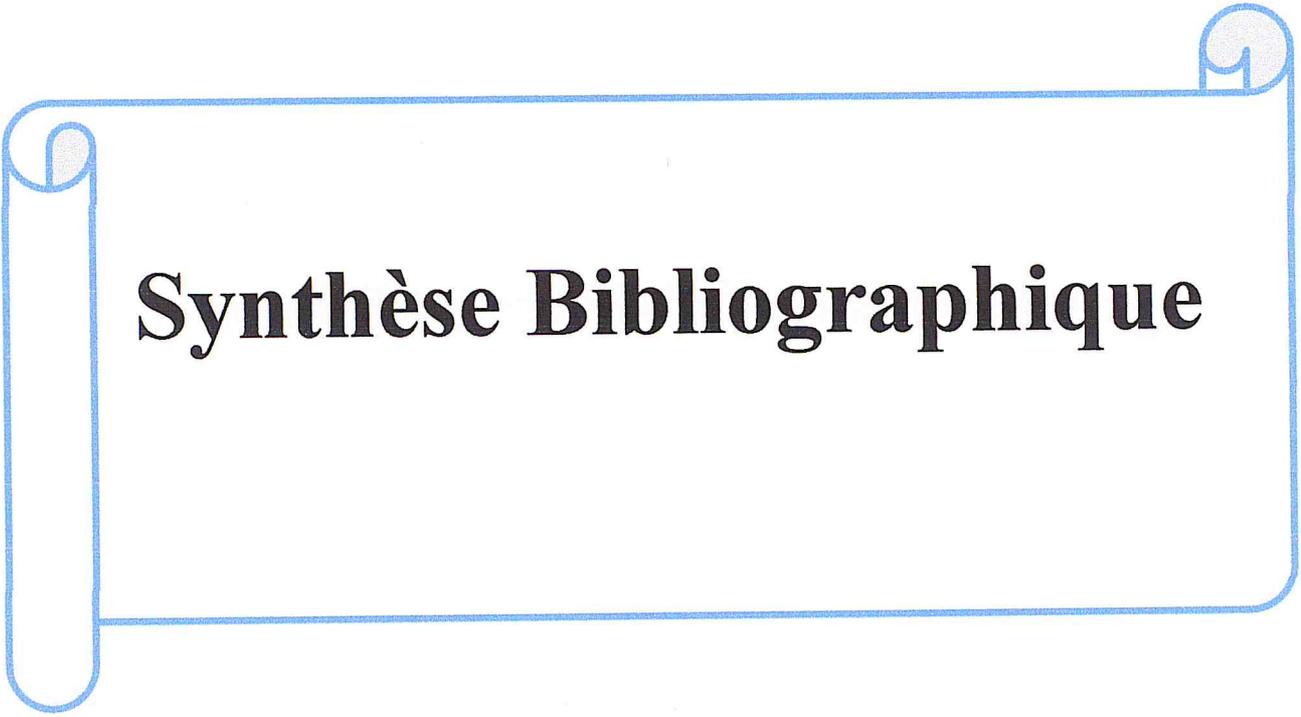
Lors de la fabrication de cigarettes, on mélange jusqu'à 50 sortes de tabac provenant de différents pays. Des additifs du tabac comme les arômes, les agents humectants et les conservateurs sont utilisés dans le but d'obtenir des propriétés spécifiques et une qualité constante. Il y a lieu de noter que les additifs du tabac sont soumis aux mêmes exigences de qualité que les denrées alimentaires et doivent donc être contrôlés en conséquence.

Les analyses chimiques, pouvant contrôler et garantir la qualité des produits du tabac, comprennent la détermination des paramètres simples, tels que le dosage en eau (titrage de Karl-Fischer), en cendres, en macro et oligo-éléments et le dosages de la teneur en certains analytes, par exemple, nicotine, résidus de métaux lourds et de pesticides ou en additifs.

- L'objectif de ce travail est de contribuer dans le développement, d'une méthode simple, rapide, et disponible pour le contrôle de la conformité et de la qualité de tabac à chiquer commercialisés au niveau du marché national.

Ce manuscrit est réparti en deux chapitres :

- Le premier chapitre présente une partie théorique générale sur les connaissances de bases suivie d'une synthèse des travaux antérieurs ayant utilisés la méthode CG-SM, HPLC-UV, CG-SM et IRTF-FIA pour analyser la nicotine dans le tabac extraite par différents procédés à partir de différentes matrices.
- Le deuxième chapitre comporte une partie expérimentale qui a pour objectif de déterminer les paramètres physico-chimiques ainsi que comparer les informations spectrales obtenues par spectroscopie ATR-IRTF des échantillons commerciaux du tabac à chiquer avec la seule marque de tabac à chiquer agréée par l'état.
- Une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus.



Synthèse Bibliographique

Définition de tabac

Le tabac est issu de matière végétale et plus particulièrement de la feuille de *Nicotiana tabacum*. Elle contient une grande diversité de molécules hydrocarbonées souvent oxygénées et/ou azotées : alcools, phénols, acides carboxyliques, acides aminées, alcaloïdes... mais aussi des bio-polymères comme la cellulose, l'hémicellulose ou la lignine [1].

I. Présentation de la plante « *Nicotiana tabacum* »

I.1. Origine et définition

Le tabac est une plante existant sous plus d'une soixante d'espèces, pour la plupart originaire d'Amérique. Les deux espèces les plus cultivées n'ont jamais été trouvées à l'état sauvage. L'espèce principalement cultivée à travers le monde pour la production de tabac à cigarette est *Nicotiana tabacum* [2]. Elle nécessite un climat chaud et beaucoup d'eau et peut atteindre de trois à six pieds de hauteur. *Nicotiana tabacum* possède une grande diversité génétique. Ainsi, au sein des plantes d'un même champ, les constituants chimiques varient beaucoup telle la quantité de sucres, d'alcaloïde, ou de celluloses.

I.2. Description botanique

Le tabac, dont le nom scientifique est *Nicotiana tabacum* est une plante robuste de la famille des solanacées, dont la taille varie de 50 cm à 1.80 mètre, voire plus selon la variété. Cette dicotylédone annuelle présente de grandes feuilles, de l'ordre de 30 à 80 cm de long et de 10 à 40 cm de large. La fleur est tubulaire et colorée à son extrémité. À l'état sauvage, il existe une soixantaine d'espèces de tabac, dont le taux de nicotine varie entre 1 et 10 %. La plus cultivée (90 %) est *Nicotiana tabacum* [3].



Figure 01: *Nicotiana tabacum* [4]

I. 3. Classification botanique [5]

Classification classique	Classification phylogénétique
Règne : plantae	Clade : Angiospermes
Sous -règne :	Clade : Dicotylédones vraies
Division : Magnoliophyta	Classe : Astéridées
Classe : Magnoliophyta	Clade : Lamiidées
Sous- classe	Clade :
Ordre : Solanales	Ordre : Solanales
Famille : Solanaceae	Famille : Solanaceae
Genre : Nicotina	Sous- Famille
N.b : Nicotiana tabacum L. (1973)	Espèce : Nicotiana tabacum L. (1973)

Partie utilisée: Les feuilles

Distribution géographique : Amérique du sud

I.4. Biologie et écologie

Nicotiana tabacum est une plante herbacée vivace, on la trouve que dans la culture. Elle atteint une hauteur comprise entre e 1 à 2 mètres. N.tabacum est originaire d'Amérique tropicale et subtropicale, mais elle est maintenant cultivée commercialement dans le monde entier. D'autres variétés sont cultivées comme plantes ornementales ou poussent comme mauvaises herbes. Nicotiana tabacum Linné est une plante herbe annuelle robuste et peu ramifiée jusqu'à 2.5 m (8.2 pi) de hauteur, avec des grandes feuilles vertes et de longues fleurs blanc-rosé en forme de trompette. Toutes les parties sont collantes et couvertes de poils glandulaires courts visqueux, qui dégagent une sécrétion jaune contenant de la nicotine [6].

I.5. Utilisation traditionnelle du tabac

L'utilisation de tabac sacré et la consommation de tabac commercial à des fins récréatives, particulièrement la cigarette, n'ont ni les mêmes objectifs ni les mêmes fonctions.

Les peuples des premières nations utilisaient le tabac à des fins médicinales et rituelles avant leur contact avec les Européens. Le tabac est offert et brûlé dans le cadre de cérémonies pour établir un lien direct avec le monde spirituel. Lors de l'utilisation traditionnelle du tabac, l'inhalation est minime [7]. Lors des cérémonies, l'Assemblée des premières nations préconise l'utilisation du tabac traditionnel, *Nicotiana rustica*, et non des tabacs commerciaux, tels que les cigarettes [8]. L'utilisation de tabac commercial à des fins rituelles sèmerait la confusion dans l'esprit des enfants et des adolescents.

I.5.1. Utilisation récréatives des différents types de tabac

a) Tabac fumé

La consommation de tabac commercial à des fins récréatives, qui consiste à inhaler la fumée de produits commerciaux à forte concentration en nicotine et en additifs toxiques, est toxicomanogène et nuisible [9].

- **Cigarettes**

La majeure partie des fumeurs fument des cigarettes produites industriellement. De nouvelles catégories ont fait leur apparition au fil des ans. Citons parmi elles:

- **Les cigarettes dites «légères»**

Elles affichent sur les paquets des taux de nicotine et de goudrons plus bas que ceux des cigarettes classiques. Cela fait croire qu'elles sont moins dangereuses alors qu'elles sont tout aussi dangereuses que les cigarettes classiques. C'est la raison pour laquelle les termes «light», «mild» ou «légères» ont été interdits – ce qui n'a pas empêché les industries du tabac de réintroduire cette notion par le biais de codes couleur (exemple: rouge = plus fort).

- **Cigarettes «sans additifs», «biologiques», «naturelles»**

Les fabricants de tabac commercialisent également des cigarettes «naturelles» ou «propres» qui sont supposées ne contenir aucun additif. Avec ou sans additifs, tous les produits du tabac sont la cause de graves maladies et peuvent entraîner une dépendance. Il n'existe pas de cigarette sans danger: la fumée inhalée contient de toute façon de la nicotine présente dans le tabac, des goudrons et du monoxyde de carbone présents à cause de la combustion.

- **Cigarettes roulées à la main**

Les cigarettes roulées à la main séduisent de plus en plus de fumeurs, surtout chez les jeunes. Elles reviennent moins cher que les cigarettes en paquet et sont perçues comme plus « naturelles » et donc moins mauvaises pour la santé. Pourtant, elles sont aussi toxiques que les cigarettes classiques. Les risques pour la santé sont comparables.

- **Cigares et cigarillos**

Les cigares et les cigarillos contiennent en général plus de tabac que les cigarettes et leur taille est variable.

Beaucoup de personnes pensent que les cigares sont moins dangereux que les cigarettes. En réalité, fumer des cigares a autant d'effets négatifs sur la santé que les autres modes de consommation de tabac. Une bouffée de fumée de cigare contient plus de nicotine, de substances toxiques et cancérigènes qu'une bouffée de fumée de cigarette. Les fumeurs de cigares présentent une forte dépendance et courent un risque important de cancers (poumon, bouche, gorge) et de maladies cardiovasculaires.

- **Pipes à eau (narguilés, shishas, houkas ou bangs)**

La pipe à eau est de plus en plus populaire auprès des jeunes adultes. Cela en raison de ses parfums agréables, de son côté exotique et de sa nature présumée sans danger. Le tabac adouci et aromatisé utilisé dans une pipe à eau peut donner envie à un certain nombre de personnes, particulièrement les jeunes, de commencer à fumer.

Contrairement à une idée répandue, la pipe à eau présente les mêmes risques pour la santé que fumer des cigarettes. **L'eau ne filtre pas les substances toxiques contenues dans le tabac.** La consommation d'une cigarette dure environ 5 minutes, celle d'une pipe à eau environ 50 minutes; ce qui implique une consommation de fumée plus importante comparée à la consommation d'une cigarette. Une séance de narguilé d'une heure correspond à l'inhalation (absorption) de 100 à 200 fois le volume de fumée inhalée par cigarette.

La chicha est composée de 25 % de tabac mélangée à de la mélasse et un arôme de fruits ou autre. Cette sensation agréable par fumée trompe tous ceux qui fument la chicha car ils n'imaginent pas que les nombreux produits toxiques inhalés peuvent avoir des effets sur la santé. Contrairement aux idées reçues, fumer la chicha est très nocif pour la santé. Fumer le

narguilé provoque par exemple une augmentation du risque de cancers, de bronchites chroniques, ou de problèmes cardiovasculaires.

Des mesures révèlent que l'augmentation du monoxyde de carbone expiré à la fin d'une chicha équivaut à celle observée lors de la consommation de 2 paquets de cigarettes. Le taux de monoxyde de carbone inhalé dans le narguilé est 7 fois supérieur à celui d'une cigarette. La fumée d'une chicha délivre autant de pollution au monoxyde de carbone (CO) que 15 à 52 cigarettes.

b) Tabac non fumé

Tabac à chiquer, snus ou tabac oral: les fabricants de tabac présentent ces produits comme des alternatives aux cigarettes quand il est interdit de fumer (par exemple dans les lieux publics) et comme des «produits plaisir».

Or ces modes de consommation comportent également des risques pour la santé. De nombreuses personnes consomment du tabac non fumé pour avoir les effets psychoactifs de la nicotine : bien-être, baisse du stress et diminution de l'appétit. La dépendance qui se crée avec le tabac non fumé pourrait inciter les consommateurs de tabac oral à se tourner vers la consommation de tabac fumé. Des études ont mis en avant cet effet, en particulier chez les adolescents.

De plus, selon le mode d'administration et les circonstances de son usage, le tabac non fumé peut être considéré comme un «produit dopant». En effet, la nicotine employée sous forme de substitut, mâchée ou inhalée, s'avère être un «psychotrope puissant» consommé par les sportifs.

• Snus et tabac à chiquer

Le snus est du tabac moulu conditionné en pâte humide avec laquelle on forme des boulettes à glisser entre la lèvre et la gencive. Il est aussi disponible dans des sachets, qui ressemblent à de petits sachets de thé.

Le tabac à chiquer ou à mâcher peut être vendu en Suisse. Par contre, le commerce de snus est interdit, comme partout ailleurs dans l'Union Européenne (sauf en Suède). L'importation de petites quantités pour une consommation personnelle n'est pas punissable.

Avec le snus et le tabac à chiquer, la nicotine pénètre dans le corps par la muqueuse buccale et peut rendre dépendant. Ils contiennent de plus des substances qui peuvent provoquer des cancers, notamment de la bouche et du pancréas. Une consommation régulière peut abîmer les dents, les gencives et la muqueuse buccale.

- **Tabac à priser**

Le tabac à priser se présente sous la forme d'une fine poudre, souvent vendue en petites boîtes métalliques. Il est généralement sec et souvent aromatisé (menthe, eucalyptus, cannelle, etc).

Le tabac à priser est déposé en petites quantités sur le dos de la main puis est aspiré par une narine, puis par l'autre. La nicotine pénètre dans le corps par les muqueuses nasales, ce qui peut rendre aussi dépendant qu'en fumant. Le tabac à priser, comme tous les produits du tabac, contient des substances cancérigènes.

I.5.2. Autres utilisations du tabac

Le tabac a une longue histoire d'utilisation par les herboristes médicaux en tant que relaxant, bien que ce soit un produit hautement addictive, il est rarement utilisé par voie interne ou externe à l'heure actuelle. Les feuilles agissent comme antispasmodiques, diurétiques, émétiques, expectorants, irritants, sédatifs et sialagogues. Les feuilles de tabac mouillées sont appliquées par voie externe dans le traitement du gonflement rhumatismal, des maladies de la peau et des piqûres agissant comme principe actif pouvant être absorbés par la peau. C'est également un remède homéopathique fabriqué à partir des feuilles séchées et utilisé dans le traitement des nausées et du mal des transports.

Quelques autres activités rapportées pour *Nicotiana tabacum* : activité analgésiques, activité anesthésique, inhibition de l'angiogenèse, activité antibactérienne, activités anticonvulsives, effet antiestrogènes, activité antifongique, activité antiglaucome, activité antioxydante, activité antistress, activité antivirale, inhibition de l'aromatase, effet arythmique, activité cancérigène. La nicotine est utilisée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la dépression et l'anxiété, provoque un déficit de l'attention, un trouble d'hyperactivité (TDAH), influe sur la douleur et l'obésité [10].

I. 6. Fabrication du tabac

➤ Quatre principaux types de tabac sont cultivés:

- ❖ **Les tabacs bruns :** Utilisés dans la fabrication de cigares, de cigarette traditionnelle couramment dénommées « cigarette brunes », ou destinés à l'usage de la pipe ; ces modes de consommation étant marginaux, la production de ce type de produit est réduite.
- ❖ **Le tabac de virginie :** Cette variété, la plus cultivée dans le monde, correspond à l'évolution de la consommation vers des produits blonds dits de goût américain ; elle est séchée à l'étuve, non fermentée (d'où richesse en sucre), son pH est acide de l'ordre de 5,5.
- ❖ **Le tabac burley:** Tabac clair très répandu, il est séché à l'air, mais non fermenté, son pH est acide et varie entre 6 et 6,75.
- ❖ **Le tabac d'orient :** Il est séché au soleil, il a de très petites feuilles et est très aromatique. Son pH est acide.

➤ La récolte, le séchage et la fermentation

Les feuilles seront récoltées en fonction de leur stade de maturation : les tabacs foncés sont généralement récoltés très murs, les tabacs légers un peu avant maturité, ceux d'orient et de virginie à maturité avancée.

Les feuilles sont triées et suspendues dans les séchoirs. La dessiccation qui suit voit d'abord la feuille jaunir et mourir, l'amidon étant alors transformé en sucres, les protéines ainsi que les pigments sont dégradés. Le séchage est une étape clé : s'il est rapide, les tabacs obtenus sont relativement clairs, s'il est lent, leur teinte est plus foncée. Il existe cinq types de séchages : **à l'air libre au soleil, à l'air libre dans un séchoir, à feu direct, à feu indirect et à l'air chaud.** Le tabac blond, qui est le plus répandu, est généralement traité en séchoir. Les feuilles sont ensuite rassemblées en manques, des liasses en regroupant environ 25, pour être soumises à la fermentation dont le niveau varie : il est modéré pour les tabacs d'orient, très long pour d'autres. Durant cette phase, le taux de nicotine diminue, de même que la quantité de sucres, mais il se développe des acides gras, des alcools et des esters qui procurent au tabac son caractère aromatique. Les fabricants surveillent la température des feuilles et les retournent pour les aérer.

➤ Préparation de la matière première

Pour les feuilles, une fois mouilles et haches, le tabac est ensuite torréfié, ce qui lui donne son goût. Le tabac produit ainsi haché subit le plus souvent une opération de saucage durant laquelle les feuilles sont aromatisées par ajout du casing, mélange contenant de la glycérine, de la réglisse, du sucre, ce dernier provenant du sirop d'érable ou de raisin, et le flavoring, qui ajoute un parfum issu d'un mélange de rhum ou d'essences, telles qu'orange, pêche, cacao ou anéthol. Il est alors emballé et envoyé à l'usine où il est transformé en cigares, cigarette [11,12].

II. Composition chimique de tabac et propriétés phyto-chimiques

II.1. Composition chimique de tabac

Les feuilles de tabac contiennent plusieurs alcaloïdes pyridique, le principal étant un alcaloïde liquide, la nicotine. D'autres alcaloïdes présents comprennent nicotine, la nicotimine, l'anabaine anataline et la nornicotine. Elles contiennent également une forte teneur en acide organique. Les feuilles contiennent également des glucosides, de la tahacinine, de la tahacilice, et de l'iso-quercitrine, le 1-quinique, chlorogénique, caféique et l'acide oxalique. Ils contiennent également des substances terpéniques et cancérigènes [13]. Nous présentons ci-dessous le détail des principales classes des produits chimiques.

II.1.1. Feuilles de tabac

Les feuilles vertes de tabac (*Nicotiana tabacum*) dont la teneur en composés chimiques est donnée (en pourcentage de poids sec) :

II.1.1.1. Alcaloïde du tabac

Les alcaloïdes sont des molécules organiques d'origine végétale de caractère alcalin, renfermant au moins une molécule d'azote salifiable. Ils dérivent des acides aminés et ont généralement des propriétés pharmacologiques.

➤ Principes actifs, propriétés pharmacologiques et effets pathologiques associés

Entre 1 et 10 % d'alcaloïdes (exceptionnellement 15%) : la nicotine est majoritaire (jusqu'à 90-95%) ; les autres alcaloïdes du tabac sont chimiquement proches de la nicotine, les plus importants sont l'anabasine, la nornicotine et la cotinine (principal métabolite de la nicotine). Le tabac contient également plus de 4000 substances considérées toxiques. Le principe le plus actif est la nicotine, un alcaloïde liquide, sirupeux, incolore qui s'obscurcit sous l'influence de l'air et sous l'action de la lumière [14].

❖ Nicotine

La nicotine est une amine tertiaire composée d'un cycle pyridinique et d'un cycle pyrrolidinique. La formule de la nicotine est : $C_{10}H_{14}N_2$.

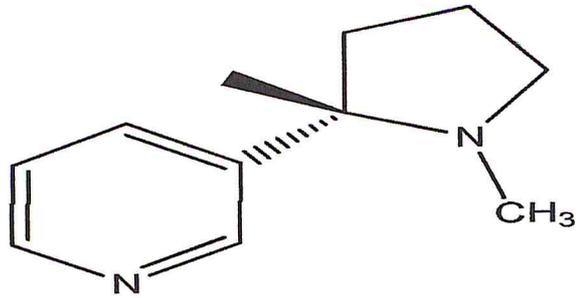


Figure 02: Structure chimique de la Nicotine.

Les principales propriétés pharmacologiques de la nicotine sont :

- Stimulation du système nerveux central et périphérique.
- A petite dose, augmente les décharges adréraliniques excitant le système nerveux sympathique en produisant une stimulation douce.
- A dose élevée, provoque des sueurs, nausées, vomissements, faiblesse musculaire et modification visuelle.

❖ **Cotinine**

Elle est présente en faible quantité dans la fumée de cigarette. Elle s'y forme par oxydation ménagée de la nicotine dont elle constitue le principal métabolite (figure 3).

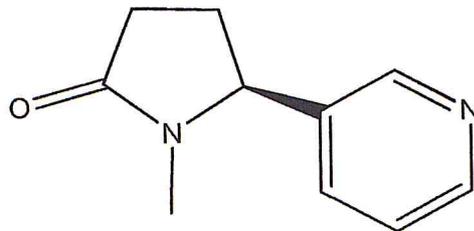


Figure 03: Structure chimique de la cotinine.

Les principales propriétés pharmacologies de la cotinine sont :

Sur le système nerveux central :

- Stimulation psychomoteur.
- Antidépresseur (commercialisée aux Etats-Unis sous le nom de Scotine).
- Stimulante sur la libération de dopamine et de noradrénaline.
- Action au niveau des récepteurs sérotoninergiques centraux : réduction du turnover de la sérotonine.

Sur le système cardiovasculaire :

- Action Artériorelaxante (démontrée sur l'aorte de lapin, selon le protocole Vanhoute).
- Antagoniste des effets hypertensifs de la nicotine et de l'adrénaline.
- Bradychardisante observée chez l'animal mais non vérifiée chez l'homme.
- Stimulante sur la biosynthèse de prostacyclin.

❖ Nornicotine

La nornicotine (figure 4) est un constituant du tabac et un métabolite de la nicotine, à la fois dans la plante et chez l'homme.

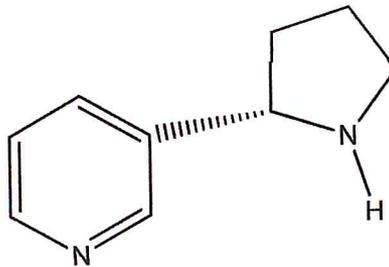


Figure 04: Structure chimique de la Nornicotine

- La nornicotine et l'anabasine ont des propriétés pharmacologiques qualitativement similaires à celles de la nicotine.
- De plus, certains de ces alcaloïdes mineurs pourraient influencer les effets de la nicotine, mais, à l'heure actuelle, il n'y a pas eu d'étude sur les effets pharmacologiques des alcaloïdes mineurs du tabac chez l'homme.

II.1.1.2. Les composés phénoliques

Les premières études détaillées sur les composés phénoliques du tabac ont été rapportées par Shmuk et ses collègues en 1953. Toute fois dès 1927, l'importance des polyphénols dans la qualité de la fumée est mise de l'avant, puis, en 1933, leur importance est confirmée alors que les polyphénols sont identifiés par Koenig et Dörr en tant que contributeurs importants au goût et à l'arôme de la fumée) [15]. Les polyphénols varient considérablement entre les différents types de tabac, Cette variabilité est attribuée à la génétique des plants aux conditions environnementales, au type de séchage ainsi qu'à la position de la feuille sur la tige (Davis et Nielsen). Bien qu'un certain nombre de composés phénoliques simples existent en petite quantité dans le tabac, ce sont l'acide chlorogénique (AC), la rutine et la

scopoletine qui sont les principaux composés polyphénoliques individuels du tabac [15], les polyphénoliques sont divisés en trois classes : les coumarines, les caffétannins et les flavonoïdes, et l'AC fait partie de la classe des caffétannins, la rutine fait partie des flavonoïdes et la scopoletine fait partie des coumarines. L'AC représente entre 0.31 et 4.3% des composés polyphénoliques, la rutine entre 0.15 et 1.8 % et la scopoletine entre 0.003 et 0.012 des composés polyphénoliques [15].

II.1.1.3. Acide chlorogénique

L'acide chlorogénique et ses isomères sont très répandus et abondants dans tout le règne végétal. L'AC est synthétisé à partir de l'acide caféique et de l'acide quinique et on peut le retrouver dans différentes parties de la plante telles les feuilles et les fruits [16]. Ayant été identifié comme constituant de tabac en 1933 par König and Dörr, il s'y retrouve principalement sous la forme de l'acide 3-o-cafféoyl-D-quinique. Dans le tabac séché à l'air chaud, l'acide chlorogénique peut atteindre jusqu'à 8% du poids sec des feuilles [17]. Comme tous les autres composés du tabac, les concentrations d'AC présentes dans le tabac varient selon les conditions environnementales, la génétique et la partie de la plante ou la hauteur des feuilles sur la tige [15].

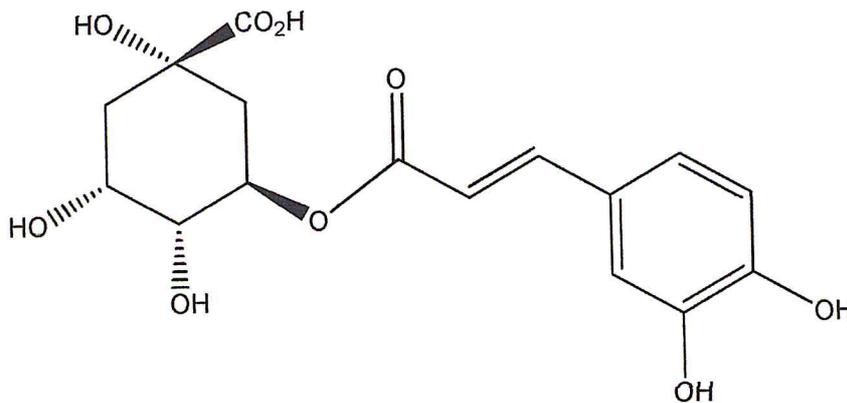


Figure 05: Structure chimique de l'acide chlorogénique

II.1.1.4. Hydrate de carbone

40 % de glucides (amidon, cellulose, sucres simples).

15 à 20 % de protéines et d'acides organiques [14].

Et autres composés chimiques comme : composés azotés, stéroïdes, et composés organiques.

II.1.2. Additifs du tabac

Les additifs du tabac sont assez nombreux ; ils figurent généralement sur des listes limitatives quant à l'autorisation de leur usage. Ces produits sont acceptés sur la base de leur toxicité propre (avant combustion) et non sur la base de leur toxicité après pyrolyse. L'application de la nouvelle directive européenne relative à l'étiquetage des produits du tabac devrait remédier à cet état de fait [18].

II.1.2.1. Humectant

Ils peuvent représenter environ 5% du poids de la cigarette. Le tableau 1 présente quelques exemples d'humectants.

Tableau 1: Quelques exemples (non exhaustifs) d'humectants.

Exemples	Utilisation
Glycérol	Fréquemment utilisé, il se transforme par pyrolyse en acroléine.
Propylène-glycol	Il peut se transformer en oxyde de propylène et est également très utilisé. On le retrouve largement dans les goudrons. Il pourrait également intervenir dans la formation d'acétaldéhyde.
Éthylène-glycol	Il est abandonné aujourd'hui car il conduit par pyrolyse à la formation d'oxyde d'éthylène. Il est métabolisé chez l'homme en acide oxalique.

II.1.2.2. Aromatisants

Le tableau 2 présente quelques aromatisants.

L'effet aromatisant de l'ammoniac serait dû à la réaction de Maillard, bien connue en chimie alimentaire, qui est à la base de la formation du « caramel ammoniacal ». L'ammoniac se forme naturellement au cours de la fermentation du tabac, de même que pendant la combustion de la cigarette, par décomposition des nombreuses substances azotées naturellement présentes dans le tabac (plus de 9 000 identifiées). L'ammoniac est donc un

composant constant de la phase vapeur de la fumée de tabac. Toute fois, son taux de transfert dans la phase vapeur de la fumée de cigarette reste faible.

Tableau 2: Quelques exemples d'aromatisants.

Exemples	Rôle
Eugénol	<i>Il se rencontre dans le clou de girofle et la banane.</i>
Acide lévulinique	Il améliorerait l'acceptabilité gustative de la nicotine.
Sucres	Ils sont généralement ajoutés en association avec l'ammoniaque pour conduire à des dérivés de la réaction de Maillard et donner des saveurs de caramel. Les sucres expliquent la présence de dérivés furaniques et pyrroliques et d'une partie de l'acétaldéhyde dans la fumée principale de cigarette.
Miel	Rôle identique à celui des sucres.

II.1.2.3. Agents de combustion

Ce sont essentiellement les nitrates qui sont utilisés pour favoriser la combustion de la cigarette, ce qui est bénéfique car cela permet la destruction de certaines substances par pyrolyse. En favorisant une combustion plus complète, ils pourraient faire baisser le taux de monoxyde de carbone qui peut aussi être éliminé par ventilation de la cigarette.

Les nitrates sont aussi incriminés dans la formation des nitrosamines. Ces nitrosamines mutagènes et cancérigènes se forment principalement lors de la fermentation du tabac, avant mise en forme, par l'intermédiaire de bactéries nitrifiantes qui utilisent les nitrates comme substrat.

II.2. Propriétés phyto- chimique de tabac

II.2.1. Activités pharmacologiques

- **Activité antibactérienne**

La nicotine, isolée des feuilles de *Nicotiana tabacum* a été complexée avec le zinc et étudié pour ses activités antibactériennes contre dix souches différentes de bactéries gram positives et gram négatives. Les résultats ont montré que le zinc (II) complexe de nicotine est plus actif contre les différents types de souches bactériennes par rapport au sel de zinc métallique utilisé pour la complexation et la nicotine seule [19].

- **Activité anti-nociceptive**

Les activités anti- nociceptives de l'extrait de feuille méthanolique de *Nicotiana tabacum* (linne) ont été évaluées à l'aide de constrictions abdominales induites par immersion de la queue, de plaques chauffantes et l'acide acétique ou de modèles de convulsions chez des souris albinos wistar [20].

- **Activité anthelminthique**

L'activité anhelmintique in-vitro et in vivo des feuilles de *N.tabacum* Linne a été étudiée pour en rationaliser l'utilisation traditionnelle. Des *Haemoncnus contortus* vivants ont été utilisés pour évaluer l'effet anthelminthique in vitro d'un extrait aqueux brut pour les études in vitro et de méthanol pour les études in vivo. Les résultants de l'étude ont montré que les deux extraits possédaient une activité anthelminthique [21].

- **Activité du système nerveux périphérique**

L'extrait de la plante montre une activité du SNP. La nicotine possède également une action diphasique sur la médullosurrénale : petites doses évoquent la décharge de catécholamine et des doses plus élevées empêchent leur libération en réponse à la stimulation du nerf splanchnique. La nicotine, comme l'acétylcholine, est connue pour stimuler un certain nombre de récepteurs sensoriels [22].

- **Activité du système nerveux central**

La nicotine stimule de manière importante le SNC. Des doses faibles en produisent une faible analgésie, avec des doses plus élevées des tremblements entraînant des convulsions peuvent

se produire. La nicotine provoque des vomissements par les deux actions centrales et périphériques. [23].

- **Activité du système cardiovasculaire**

L'extrait de plante *Nicotiana tabacum* montre l'activité cardiovasculaire. Les réponses cardiovasculaires à la nicotine sont dues à la stimulation des ganglions sympathiques et de la médulla surrénale, ainsi qu'à la décharge des catécholamines des terminaisons nerveuses sympathique. Contribuant également à la réponse sympathomimétique à la nicotine lors de l'activation des chimiorécepteurs des corps l'aorte et carotide, ceci se traduit par une vasoconstriction, une tachycardie et une pression artérielle élevée [24].

- **Activité du tractus gastro-intestinal**

L'activation combinée des ganglions parasympathiques et des terminaisons nerveuses cholinergique par la nicotine de la plante de tabac a pour résultat une augmentation du tonus et de l'activité motrice de l'intestin [25].

- **Activité des glandes exocrines**

L'extrait de plante montre un effet sur les glandes exocrines. La nicotine a un effet sur les glandes exocrines. La nicotine provoque une stimulation initiale des sécrétions salivaires et bronchiques qui est suivie par inhibition [26].

III. Protocole d'analyse du tabac et des produits du tabac -+

Nous exposons ci- dessous toutes les méthodes officielles d'analyse du tabac et des produits du tabac et les travaux de recherche réalisés antérieurement sur l'analyse de la nicotine dans le tabac et produits du tabac [26].

III.1. Méthodes officielles d'analyse du tabac et des produits du tabac

Objets soumis à l'essai ou à analyse	Caractéristique et propriétés mesurées	Principe de mesure et équipement	Méthodes d'essai
Tabac et produits du tabac	Détermination de la Teneur en alcaloïdes	Spectrométrie	<u>ISO 2881:1992</u> Détermination de la Teneur en alcaloïdes, exprimés en nicotine par Méthode spectrométrique.
	Détermination des alcaloïdes dans les condensats de fumée	Spectrométrie	<u>ISO 3400:1997</u> Cigarettes -- Détermination des alcaloïdes dans les condensats de fumée par Méthode spectrométrique.
	Détermination de la rétention des alcaloïdes par les filtres	Spectrométrie	<u>ISO 3401:1991</u> Cigarettes -- Détermination de la rétention des alcaloïdes par les filtres par Méthode spectrométrique.
	Détermination de la teneur en eau	Karl Fischer	<u>ISO 6488:2004</u> Détermination de la teneur en eau par Méthode de Karl Fischer.
	Détermination de la teneur en eau dans la phase particulaire de la fumée de produit de tabac	Chromatographie en phase gazeuse	<u>ISO 10362-1:1999</u> Cigarettes -- Dosage de l'eau dans les condensats de fumée -- Partie 1: Méthode par chromatographie en phase gazeuse.

Détermination de la pureté de la Nicotine	Gravimétrie à l'acide tungstosilicique.	<u>ISO 13276:2017</u> Détermination de la pureté de la Nicotine -- Méthode gravimétrique à l'acide tungstosilicique.
Détermination de la teneur en eau	Chromatographie en phase gazeuse	<u>ISO 16632:2013</u> Détermination de la teneur en eau -- Méthode par chromatographie en phase gazeuse.
Dosage de la nicotine et de la 3-éthénylpyridine en phase vapeur dans l'air	Chromatographie en phase gazeuse	<u>ISO 18145:2003</u> Fumée de tabac ambiante - Dosage de la nicotine et de la 3-éthénylpyridine en phase vapeur dans l'air -- Méthode par chromatographie en phase gazeuse.
Détermination du monoxyde de carbone dans le courant secondaire de fumée - - Méthode utilisant une machine à fumer analytique	Méthode utilisant une machine à fumer analytique	<u>ISO 20774:2013</u> Cigarettes -- Détermination du monoxyde de carbone dans le courant secondaire de fumée -- Méthode utilisant une machine à fumer analytique de routine linéaire équipée d'une cheminée individuelle en forme de queue de poisson.
Dosage de l'ammoniac	chromatographie ionique.	<u>ISO 21045:2018</u> Dosage de l'ammoniac – Méthode par chromatographie ionique.

	Dosage de carbonyles sélectionnés dans le courant Principal de La fumée de cigarette	Chromatographie liquide haute performance.	<u>ISO 21160:2018</u> Cigarettes -- Dosage de carbonyles sélectionnés dans le courant Principal de La fumée de cigarette -- Méthode par CLHP.
Tabac et produit de tabac	Dosage de composés organiques volatils sélectionnés dans le courant principal de la fumée de cigarette	Chromatographie en phase gazeuse	<u>ISO 21330:2018</u> Cigarettes -- Dosage de composés organiques volatils sélectionnés dans le courant principal de la fumée de cigarette -- Méthode par CG-SM.
	Détermination de la nicotine dans la phase particulaire de la fumée de produit de tabac	Chromatographie en phase gazeuse	<u>ISO 10315</u> Cigarettes -- Dosage de la nicotine dans les condensats de fumée par Méthode chromatographie en phase gazeuse.
	Conditionnement de cigarettes	Mesures manuelles en température et hygrométrie. Détermination de l'équilibre thermo-hygrométrique par gravimétrie	<u>ISO 3402</u> Tabac et produit du tabac – atmosphère de conditionnement et d'essai.
	Détermination du monoxyde de carbone dans la phase gazeuse de la fumée de produit de tabac	Analyseur a faisceau infrarouge non dispersé (IRND)	<u>ISO 8454</u> Cigarettes -- Détermination du monoxyde de carbone dans la phase gazeuse de fumée Cigarettes par Méthode IRND.

III.2. Les travaux de recherche réalisés antérieurement sur l'analyse de la nicotine dans le tabac et produits du tabacs

❖ **Amzad M. Hossain , Syed M. Salehuddin [27].**

❖ **Matrice :** tabac

❖ **Analyte :** nicotine.

❖ **Méthode d'analyse :** CG - SM

- Colonne capillaire VF-5 : (film de 30 m× 0.25 mm).
- Epaisseur de film (0.25 lm, varian, USA).
- Débit : 1 ml /min.
- Détection CG-SM, un système d'électronisation avec une énergie

d'ionisation = 70 ev

- Maintenu isotherme pendant 20 min et finalement élevée à 300 °C à 10 °C/ min.
- T = 250 à 300 ° C (température de l'injecteur).
- T = 50 à 200 °C à 8 °C/min (température du four a été programme).
- Echantillon dilué (1/100 v/v dans le méthanol).
- Injecteur manuelle de mode split less : 0.2 µl.
- Gaz vecteur : hélium.

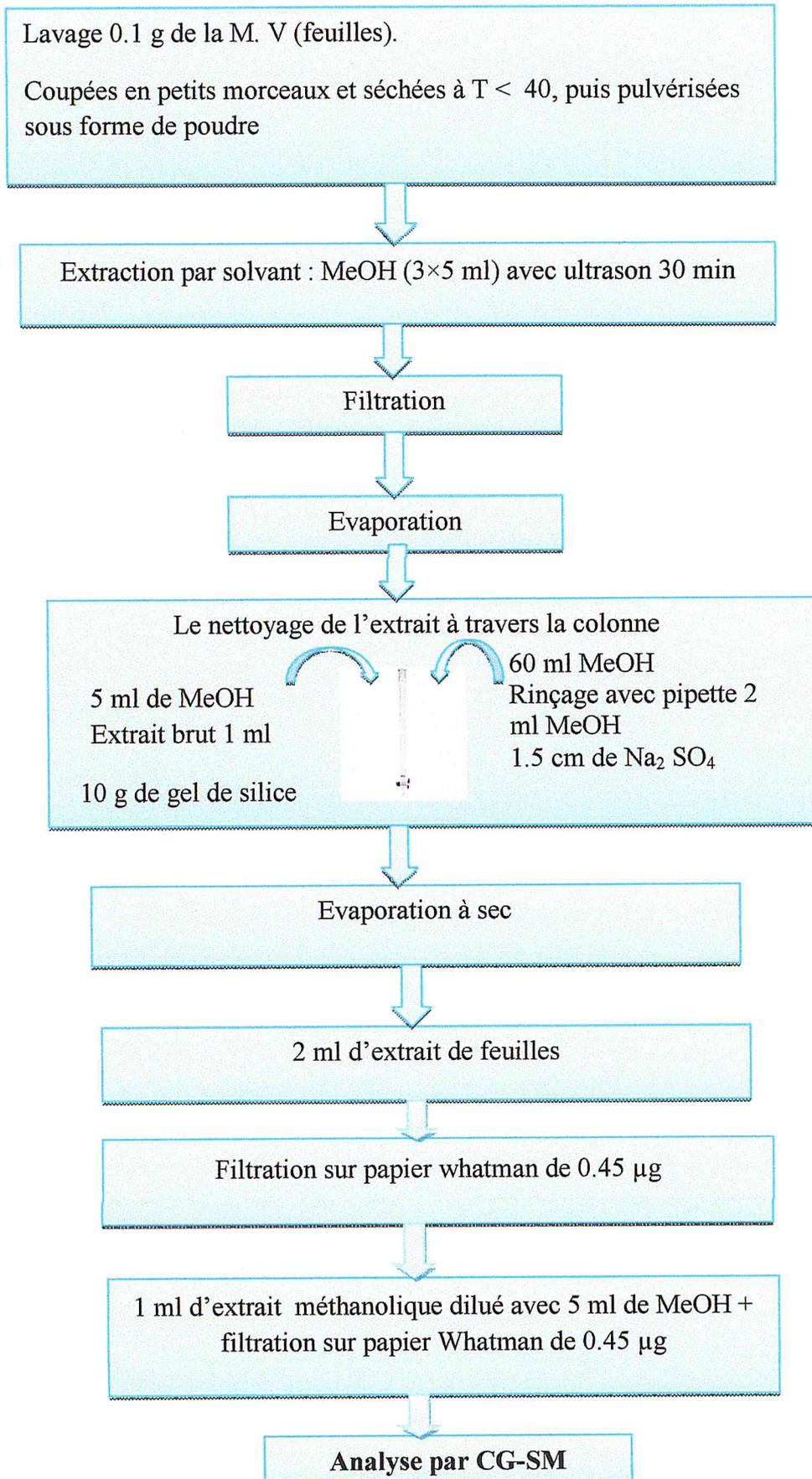
❖ **Paramètre analytique**

- L.D : ppm
- Non sélective détecte : ng
- Précision

❖ **Teneur.**

- La Série d'étalonnage linéaires (5, 50, 500, 750, 1000 ng) : sur colonne pour la nicotine.
- 5 à 100 µg / ml : précision.
- 5, 50, 100 ng : concentration de l'étalon ajouté aux solutions d'échantillon.
- 83 à 96 % : intervalle de récupération de la nicotine.
- 0.9 – 3.6 % : la concentration de nicotine dans les échantillons de feuille de tabac du Bangladesh.
- 2.5 ng : L.D de nicotine.

❖ Procédé d'extraction



❖ Nahid Moghbel BoMi Ryu Kathryn J. Steadman [28].

❖ Matrice : tabac

❖ Analyte : alcaloïde

❖ Méthode analyse : HPLC -UV

- HPLC : C₁₈ (apolaire)
- UV = 260 nm.
- Phase mobile (ACN+ tampon)
- Taille particule = 3.5 µm.
- PH = 10.5.
- Débit = 0.8 ml/min.
- T = 25 ° C
- Volume injecté = 40 µl
- L'ACN (gradient de 9 à 13 % et d'ammonium 15 min)
- T = 13 min pour séparer six alcaloïdes

❖ Paramétré analytique

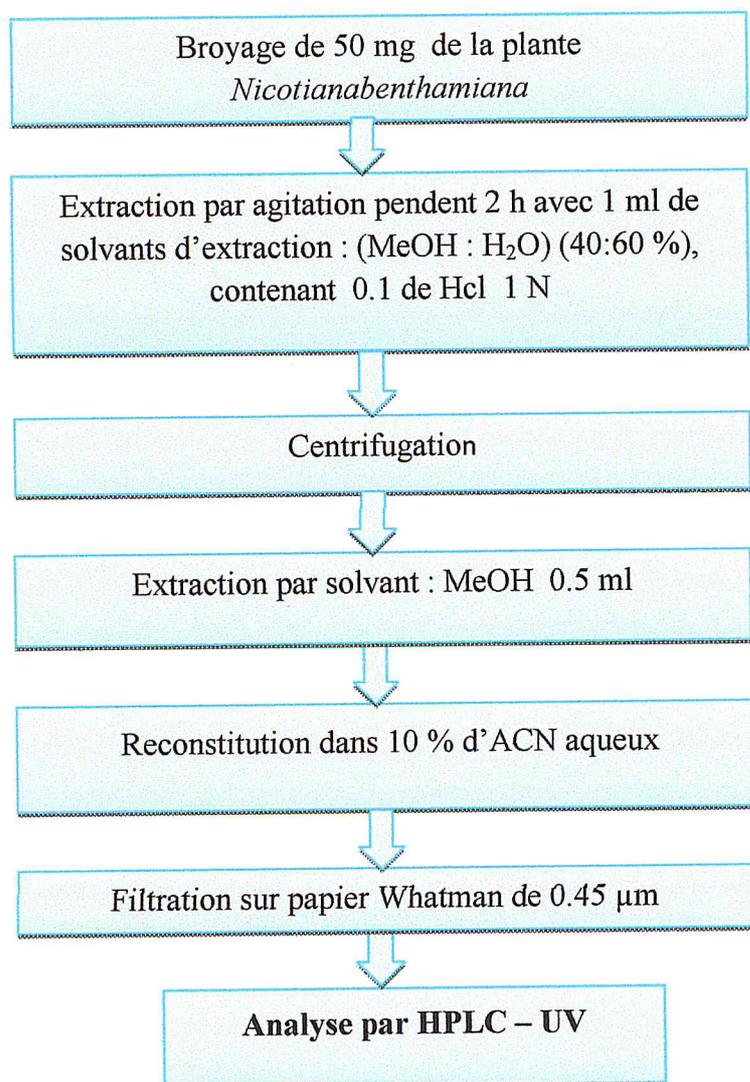
- RSD < 2 %
- Coefficient de corrélation r = 0.999
- Reproductibilité < 2 %
- L.D = 1.6 µg / ml de Nicotine et ≥ 1 µg pour tous les autres alcaloïdes
- L.Q = 2.8 et 4.8 µg /ml pour (Nicotine et nornicotine) et < 2 µg/ ml pour tous les autres alcaloïdes.
- Nombre de plateaux N > 2000
- Résolution R > 2.0
- Facteur de capacité K > 2.0
- Temps de rétention T_r > 6 min

❖ Teneur mg alcaloïde / g. M. V .F

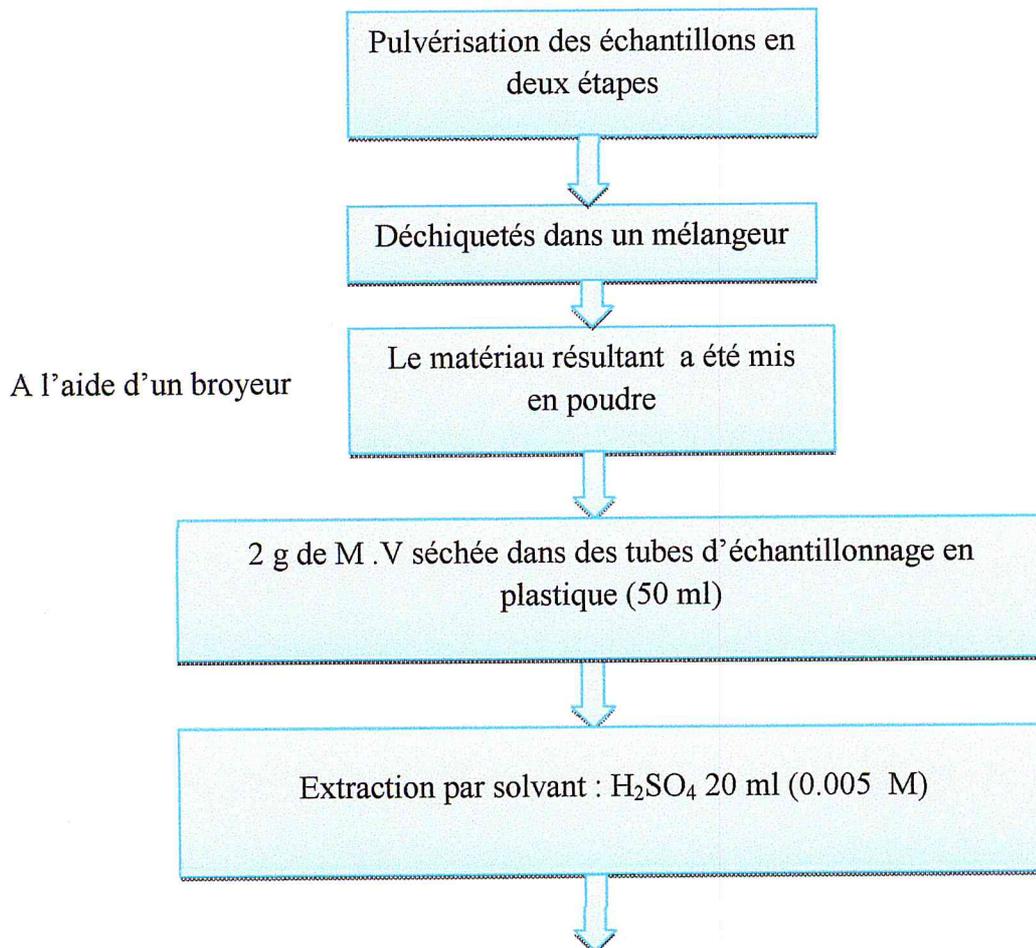
- 2.6 mg / g de nicotine
 - 0.3 mg /g de de nornicotine
 - 0.3 mg /g de anabasine
 - 0.2 mg /g de anatabine
- HPLC- UV

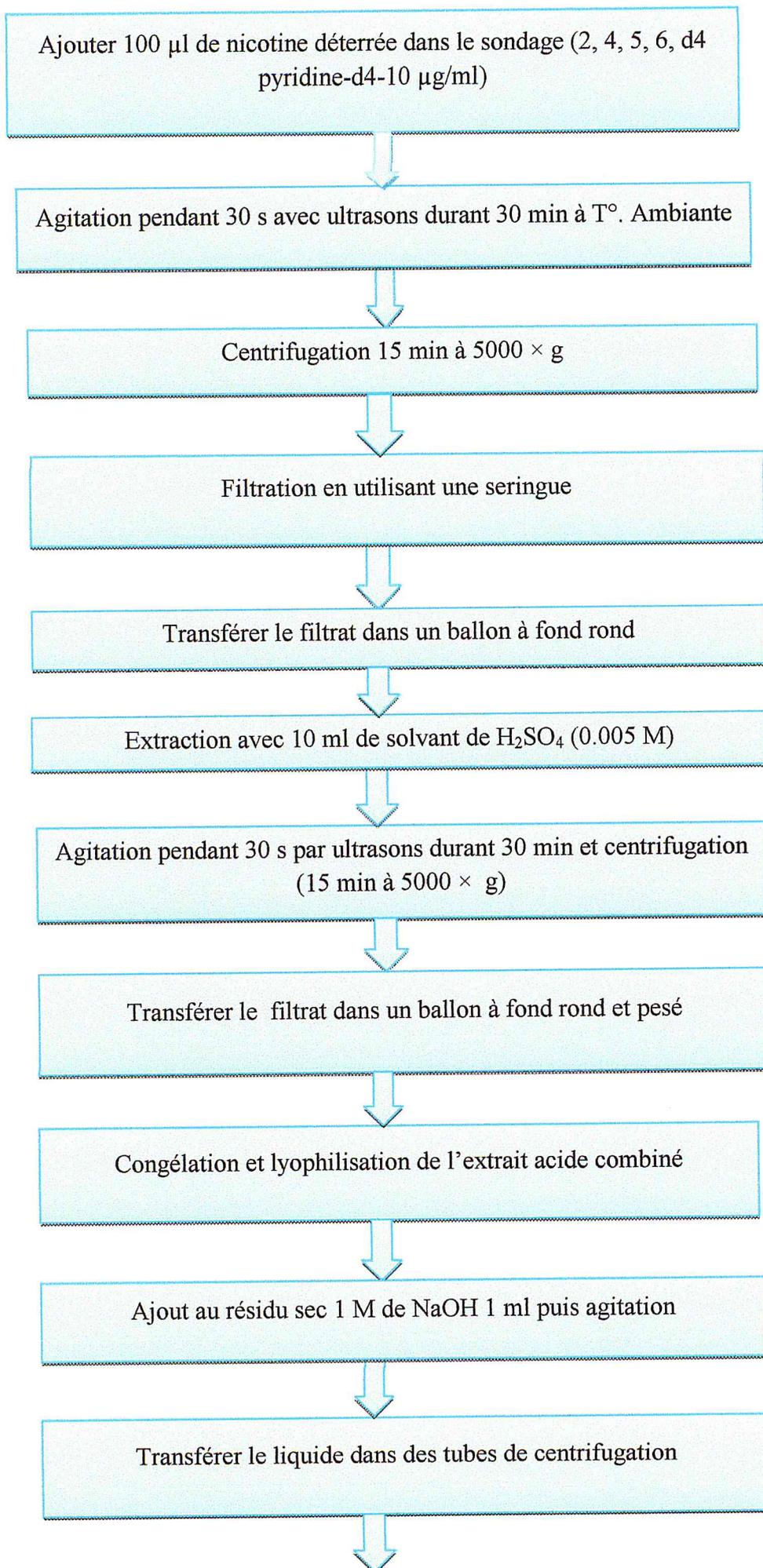
- 2.91 mg/g de nicotine
 - 0.022 mg /g de nornicotine
 - 0.580 mg /g de anabasine
 - 0.090 mg /g de anatabine
 - 6.34 mg/g de nicotine
 - 0.077 mg /g de nornicotine
 - 0.96 mg /g de anabasine
 - 0.31 mg /g de anatabine
- } CG

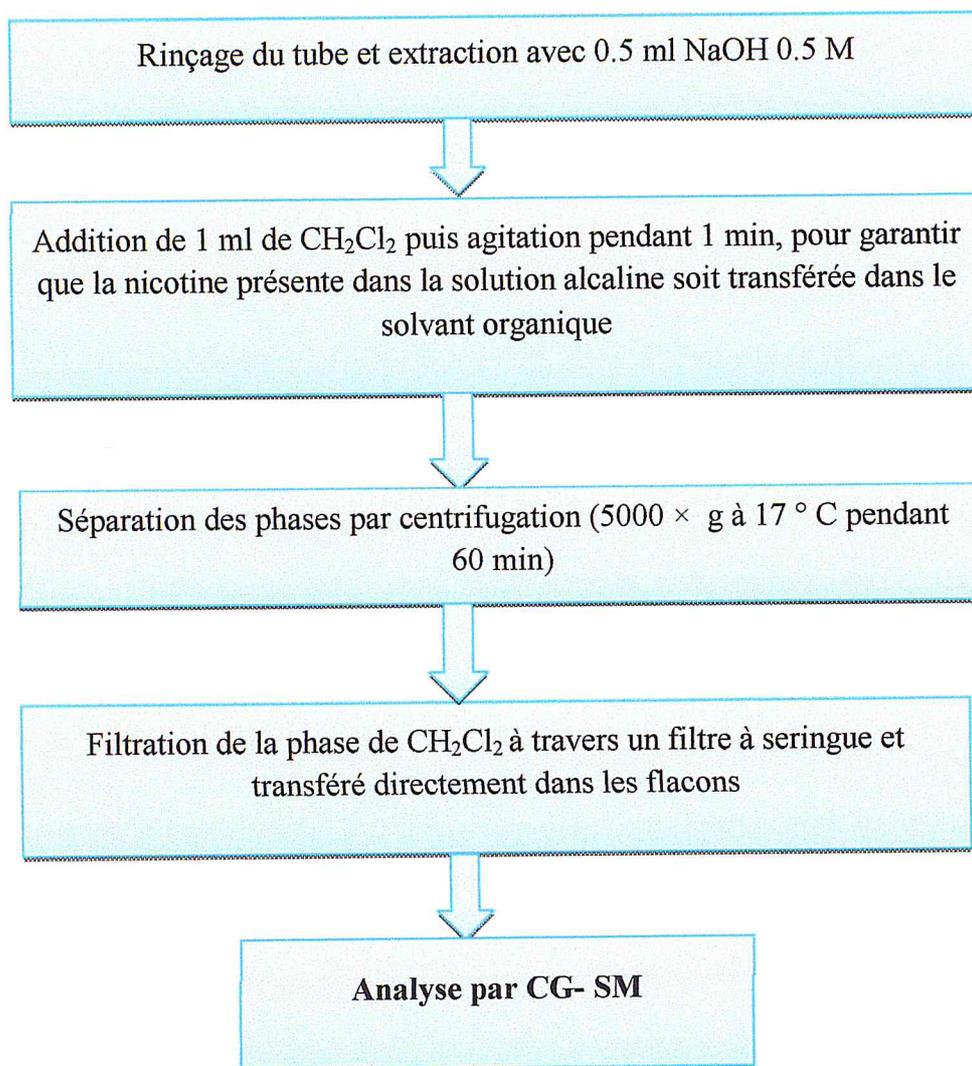
❖ Procédé d'extraction



- ❖ Selmar D. et all [29].
- ❖ **Matrice** : Herber et différents espèce de plante.
- ❖ **Anlyte** : nicotine
- ❖ **Méthode d'analyse** : CG –SM
 - Colonne capillaire : (DB : 5MS ; 30 m)
 - Diamètre = 0.2 5mm
 - Epaisseur de film = 0.25 μ m
 - T = 45 à 300 °C (température de four)
 - Gradient : T = 40 ° C/ min
 - PH = 8.6
 - Valeur de m : z 162 et 166 : quantificateur pour nicotine
 - Valeur de m : z 133 et 137 : quantificateur d4 – nicotine
- ❖ **Paramètre analytique**
 - Ecart type S >> 20
- ❖ **Teneur de contamination**
 - 17 μ g /g : dans les feuilles des coriandres
 - 4 μ g / g : dans les feuilles de persil
- ❖ **Procédé d'extraction**







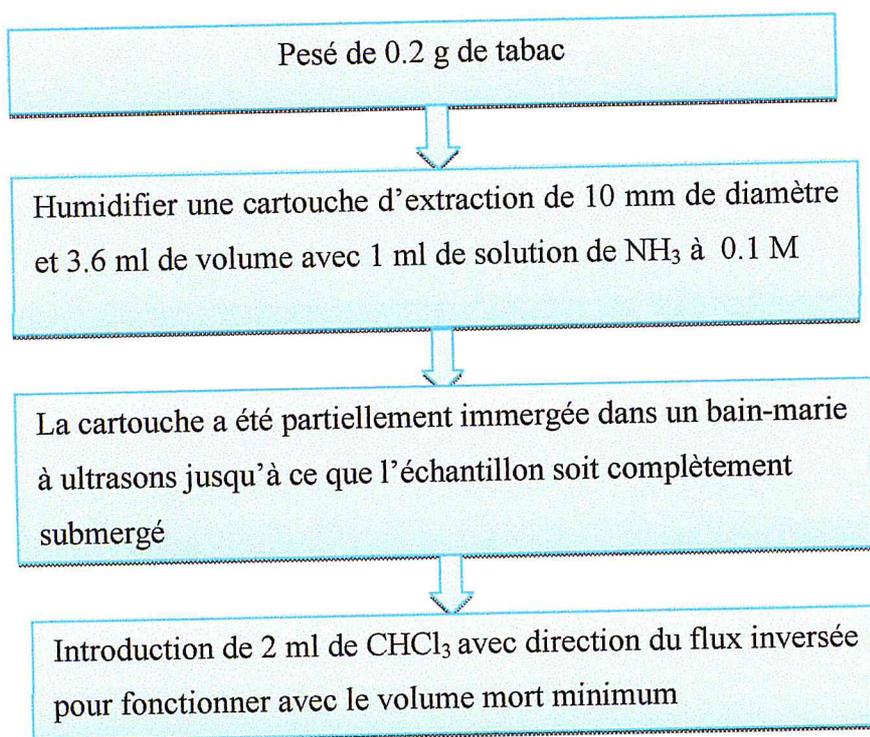
- ❖ **Jose M. Garrigues, Ampara Pérez- Ponce, Salvador Garrigues and Miguel de la Guardian [30].**
- ❖ **Matrice :** tabac
- ❖ **Analyte :** nicotine
- ❖ **Méthode d'analyse :** IRTF- FIA (méthode d'analyse en flux injecté)
 - Mesures spectrales avec une résolution nominale de 4 cm⁻¹
 - Longueur de trajet optique de 0.457 mm
 - Diamètre du cartouche EPS de 10 mm et 3.6 ml de volume
- ❖ **Paramètre analytique :**
 - L.D = 0.1 mg /ml de nicotine (dans un domaine de confiance de 99.6 %).
 - RSD < 2 % (analyse dépendent).
 - Coefficient de corrélation r = 0.998

- RSD = 0.8 % à partir des trois analyses indépendantes d'un échantillon contenant 2.12 %.

❖ Teneur

- Humidité moyenne des échantillons de cigarettes étant de 4.5% m/m
- Nombres d'onde allant de 1500 à 900 cm^{-1} (spectre infrarouges moyens de solution de nicotine dans le chloroforme).
- Nombres d'onde allant 1300 et 1334 cm^{-1} (spectre infrarouge moyens de solution chloroformique humidifiés en NH_3)
- Concentration de 1,9 mg/ml de nicotine (après extraction a été évaluée de 100 à 500 μl pour une concentration de nicotine, et en utilisant un débit de support de 0.66 ml/min)
- Détermination FI- IRTF de nicotine peuvent être obtenues dans un intervalle de concentrations de 0-3.06 mg/ml.
- Courbe d'étalonnage typique correspond à $y = (0.005 \pm 0.002) + (0.0086 \pm 0.001) C$ avec Coefficient de régression $r^2 = 0.9996$
- Courbe d'étalonnage $y = (0.0003 \pm 0.0002) + (0.00896 \pm 0.0001) C$ avec $r^2 = 0.996$.

❖ Procédé d'extraction





Extraction de la nicotine à partir du tabac effectuée pendant 2 min dans un système à flux fermé préalablement remplie d'air



400 μl d'extrait échantillonné avec la 2^{ème} vanne et injecté dans le flux porteur pour l'acheminement au détecteur



Les spectres IRTF ont été enregistrés en continu entre 4000 et 600 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} à 2 scan par spectre



A partir de ces spectres, des valeurs d'absorbances de la surface maximales à 1316 cm^{-1} , mesurées entre 1334 et 1300 cm^{-1} , ont été obtenues en fonction du temps. La surface de l'enregistrement FI correspondante a été utilisée comme paramètre de l'analyse quantitative, permettant une connexion de la ligne de base entre les injections consécutives et un lissage des enregistrements en 11 points



Les valeurs des échantillons ont été extrapolés sur une courbe d'étalonnage obtenue à partir de l'injection de 400 μl d'étalon à la nicotine dissoute dans du CHCl_3 et mesuré de la même manière que les échantillons

IV. analyses qualitative par spectroscopie IRTF et ATR-IRTF

IV.1. Potentiel de la spectroscopie IRTF pour l'analyse qualitative

L'analyse qualitative par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est la méthode la plus universelle vu la quantité d'information obtenue. Le spectre infrarouge d'une molécule est une fonction des atomes constituant cette molécule et des forces de liaison qui les lient. Une molécule non linéaire constituée de N atomes présente un spectre pouvant comporter jusqu'à $(3N-6)$ bandes d'absorption. En général, ce nombre est inférieur pour des raisons de symétrie [31]. L'analyse qualitative se réalise généralement en deux étapes :

(1) Identification des groupements fonctionnels de la substance.

(2) Confirmation de la structure moléculaire par comparaison de la totalité du spectre avec celui d'un composé connu [32].

La concordance exacte entre le spectre d'un composé de structure connue et celui d'un analyte permet d'identifier ce dernier sans aucun doute possible, du fait qu'il n'existe pas deux composés de structure différente qui ont le même spectre IR (on parle « d'empreinte digitale » du composé) [33].

IV.2.1. Définition de réflexion totale atténuée ATR-IRTF

La réflexion totale atténuée (ATR) est une technique d'échantillonnage pour des analyses par spectrométrie (ATR-IRTF) qui fournit d'excellentes données de qualité en conjonction avec la meilleure reproductibilité de toute technique d'échantillonnage IR. Cette technique a révolutionné l'échantillonnage IR solides et liquides à travers :

- Un échantillonnage plus rapide,
- L'amélioration de l'échantillon à échantillon reproductibilité,

IV.2.2. Principes d'ATR-IRTF

Un accessoire de réflexion totale atténuée (ATR) fonctionne en mesurant les changements qui se produisent dans un faisceau infrarouge réfléchi totalement réfléchi lorsque le faisceau entre en contact avec un échantillon. Un faisceau infrarouge est dirigé sur un cristal optiquement dense avec un indice de réfraction élevé à un certain angle. Cette réflexion interne crée une onde évanescente qui s'étend au-delà de la surface du cristal et pénètre dans l'échantillon maintenu en contact avec le cristal. Il peut être plus facile de penser de cette onde évanescente comme une bulle d'infrarouge qui se trouve sur la surface du cristal. Cette onde évanescente

ne dépasse que de quelques microns ($0,5 \mu - 5 \mu$) au-delà de la surface du cristal et dans l'échantillon. Par conséquent, il doit exister un bon contact entre l'échantillon et la surface du cristal. Dans les régions du spectre infrarouge où l'échantillon absorbe de l'énergie, l'onde évanescente sera atténuée ou modifiée. L'énergie atténuée de chaque onde évanescente. On fait passer vers le faisceau infrarouge, est transmis au faisceau IR qui sort ensuite de l'extrémité opposée du cristal et est transmis au détecteur dans le spectromètre IR. Le système génère ensuite un spectre infrarouge. Pour que la technique réussisse, les deux conditions suivantes doivent être remplies :

- ✓ L'échantillon doit être en contact direct avec le cristal ATR, parce que l'onde évanescente ou la bulle ne dépasse que le cristal de $0,5 \mu - 5 \mu$.
- ✓ L'indice de réfraction du cristal doit être nettement supérieur à celui de l'échantillon ou bien une réflexion interne ne se produira pas - la lumière est transmise au lieu d'une réflexion interne dans le cristal. Typiquement, les cristaux ATR-IRTF ont des valeurs d'indice de réfraction entre 2,38 et 4,01 à 2000 cm^{-1} [34].

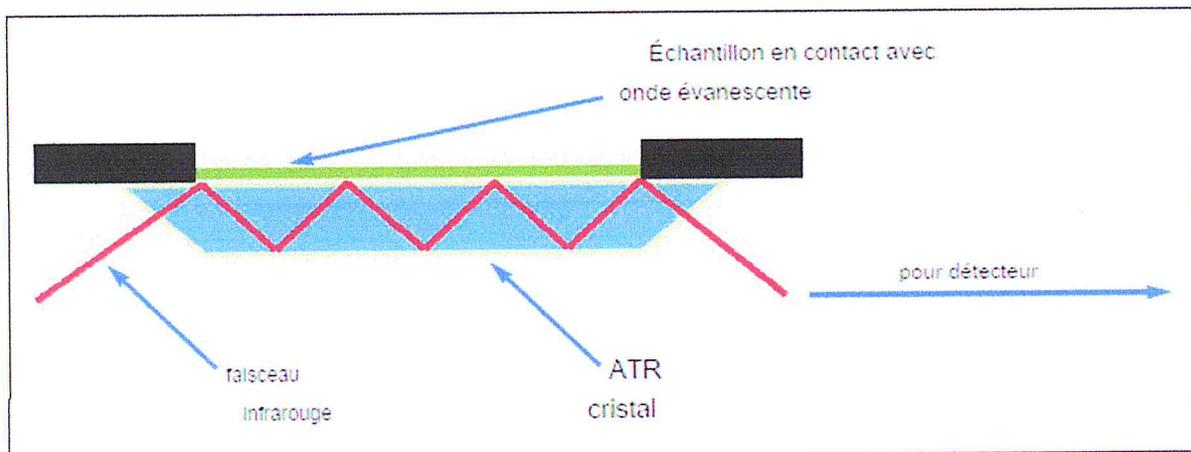


Figure 06: Un système d'ATR-IRTF de réflexion multiple



Partie Expérimentale

I.1.Analyse physico- chimique de tabac

Les paramètres analysés lors des six campagnes annuelles de prélèvement sont :

- **Des indicateurs globaux de qualité :** la température, l'oxygène dissous et le pourcentage de saturation en oxygène, le pH, la conductivité, les matières suspension (MES), et la carbone organique total (COT).
- **Des polluants spécifiques :** l'ion ammonium, les nitrates et les phosphates.

I.1.1.pH mètre

I.1.1.1.Principe

- Un extrait aqueux de l'échantillon de tabac et produit de tabac sont préparées et leurs pH est déterminé en utilisant une électrode de pH, et selon le protocole décrit dans la référence [35].

I.1.1.2.Appareil utilisés

- pH-mètre.
- Agitateur orbital ou agitateur magnétique.
- Pipette de 20,0 ml ou un distributeur automatique calibré permettant la distribution de 20,0 ml \pm 0,5 ml.
- Récipient d'extraction, 50 ml de conteneur de polypropylène.

I.1.1.3.Réactif

- Tous les réactifs sont d'une qualité analytique.
- L'eau, grade 2 selon la norme ISO 3696 de 1987.
- Des tampons de pH standard à 4,00, 7,00 et 10,00 ; ont été utilisées pour étalonner le pH- mètre

I.1.1.4.Mesure du pH

- L'environnement d'essai doit être compris entre 20 ° C et 25 ° C et ne peut varier de plus de \pm 1° C durant la détermination du pH. La température en cours des essais doit être notée.
- 2,0 \pm 0,1 g d'échantillon ont été pesés dans un récipient de 50 ml.
- 20 \pm 0,5 ml d'eau ont été ajoutés. Le mélange a été met sous agitation pendant 30 min.

- Une fois que les échantillons sont secoués et agités, le pH de chaque échantillon a été enregistré avec une précision d'au moins deux décimales.
- L'électrode est rincée avec de l'eau, avant et après chaque mesure et stocké conformément aux instructions du fabricant.

I.1.2. Taux d'humidité

I.1.2.1. Principe

Le terme « humidité » correspond à la teneur en eau sous forme liquide dans la substance ou vapeur dans l'air. Le taux d'humidité est déterminé par gravimétrie comme indique ci- dessous.

I.1.2.2.Mode opératoire

Les échantillons de tabac ont subit un traitement de séchage à 60 °C pendant 12 heures et après le broyage des échantillons en obtient une poudre fine [36].

A partir de cette étape, on détermine les taux d'humidités par gravimétrie pour chaque marque, qui sont résumés dans la figure (9).

I.1.2.3. Méthode de calcul

$$H (\%) = \frac{M_{\text{exp}}}{M_0} \times 100$$

Dont :

H (%) : taux d'humidité

M₀ : masse de l'échantillon initiale en g

M_{exp} : masse de l'échantillon après séchage en g

1.1.3. Teneur en cendre

I.1.3.1.Mode opératoire

Deux gramme de tabac à chiquer sont pesés dans une capsule en porcelaine, puis incinérés dans un four à 700 °C durant 2 heures. Après la calcination, la capsule avec le produit ont été pesés et la teneur des cendres a été déterminée par gravimétrie comme indique ci-dessous. [37].

I.1.3.2. Méthode de calcul

$$C(\%) = \frac{(P_f - P_c)}{p_E} \times 100$$

Dont :

C% : teneur en cendres

P_f : poids du creuset + échantillon après incinération

P_c : poids du creuset vide

p_E : masse initiale d'échantillon

II.2. Analyse par spectroscopie des différents échantillons de cette étude

II.2.1. Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) transmission

Une spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de marque JASCO- type IRTF-4100, équipé d'un détecteur sulfate triglicine deutère (DSTG) à température ambiante, d'une séparatrice de radiation en KBr, d'une fente type globar et d'un système de processus digital (SPD), d'une source infrarouge moyen (4000-400 cm⁻¹), d'un rayonnement de laser et un diviseur de faisceau KBr a été utilisé. L'acquisition des spectres a été effectuée avec une résolution de 4 cm⁻¹ et un nombre de scan 15 spectres. Le traitement des spectres est réalisé avec le logiciel OPUS 6.5 sous le système d'exploitation Microsoft Windows XP.

Dans cette partie on a travaillé en phase solide et en phase liquide.

La technique de la pastille en bromure de potassium (KBr) a été utilisée pour l'analyse du tabac à chiquer. Dans tous les spectres IRTF, 5 mg d'échantillon solide ont été broyé en fine particules à l'aide d'un mortier en agate, puis mélangé uniformément avec 100 mg de KBr. L'échantillon a été placé ensuite dans un moule à pastille et pressé avec une pastilleuse à 1 bar pour obtenir une pastille. Une pastille KBr est utilisée pour établir un background.

Pour obtenir les solutions liquides, une masse de 0.1g d'échantillon a été émergée dans 5 ml de CH₂Cl₂. Une cellule conventionnelle de CaF₂ a été utilisée.

II.2.2. Analyse des échantillons par ATR- IRTF en phase solide

Une spectrométrie réflexion totale atténuée-infrarouge à transformée de Fourier (ATR-IRTF) de marque THERMO SCIENTIFC, équipé d'un détecteur (DTGS-KBr) à haute performance (1000-375 cm⁻¹), d'une séparatrice (XT-KBr) d'une source infrarouge moyen (4000-400 cm⁻¹). L'acquisition des spectres a été effectuée avec une résolution de 8 cm⁻¹ et un nombre de

scan 20 spectres. Le traitement des spectres est réalisé avec le logiciel OPUS 6.5 sous le système d'exploitation Microsoft Windows XP.

Après que la zone de cristal a été nettoyée avec l'eau et de l'acétone, le background est établi, ensuite les échantillons de tabac et produit de tabac sont directement déposés sur le cristal de réflexion de l'accessoire. Une fois que le solide a été placé sur la zone de cristal, les mèches du bras de pression doivent être dans une position précise au-dessus du cristal de diamant, afin d'obtenir une dispersion uniforme de l'échantillon sur la surface de diamant figure (7).

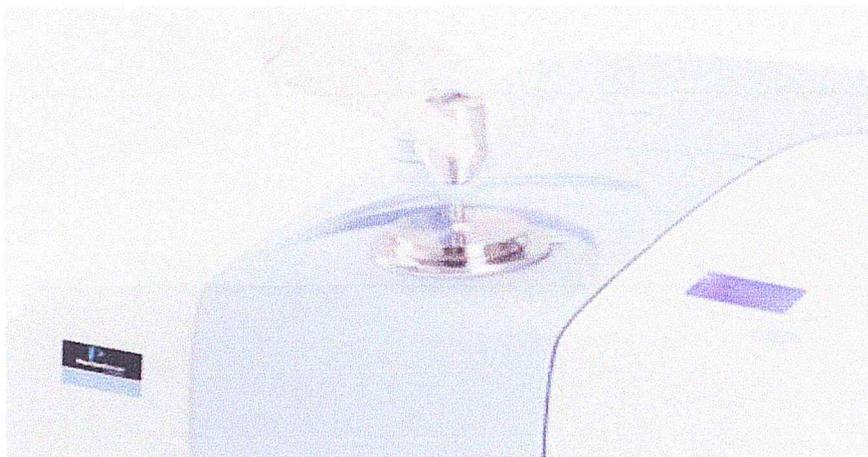


Figure 07: Mode d'échantillonnage ATR-IRTF

III. Résultats et discussion

III.1. Analyse physico-chimique de tabac

Les différents échantillons considérés dans cette étude sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 03: Les différents échantillons de cette étude

Code	Type d'échantillon commercial
A01- A02	Tabac à chiquer agréée par l'état : il a lieu de noter que la même marque se présente sous deux formes de conditionnement
A03-A12	<i>Les différentes marques commerciales de tabac à chiquer</i>
TVES- TELI- TOS-TNES- C.H.CB.F.04- TVESB- TBES	Les feuilles de tabac utilisées dans l'industrie algérienne de tabac
PTCA	<i>Feuille utilisée par les fabricants du tabac artisanale</i>
A13	Formulation de tabac à chiquer préparée au niveau de notre laboratoire : selon les informations fournies par fabricants artisanale ($\frac{1}{4}$: cendre + $\frac{3}{4}$: feuille de tabac artisanale PTCA+ eau)
C.EDGE-C.N- M.N-M.L	Les différentes marques commerciales de cigarettes fabriquées
Cendre de ficus carica-espèce ficus carica L - espèce ficus carica -lentisque	Les additifs usuellement ajoutés dans la formulation artisanale du tabac à chiquer

III.1.1. pH des différents échantillons de cette étude

La température d'air 19 °C.

La moyenne de trois analyses indépendantes.

Le tableau (4) et la figure (8) résume le pH des différents échantillons

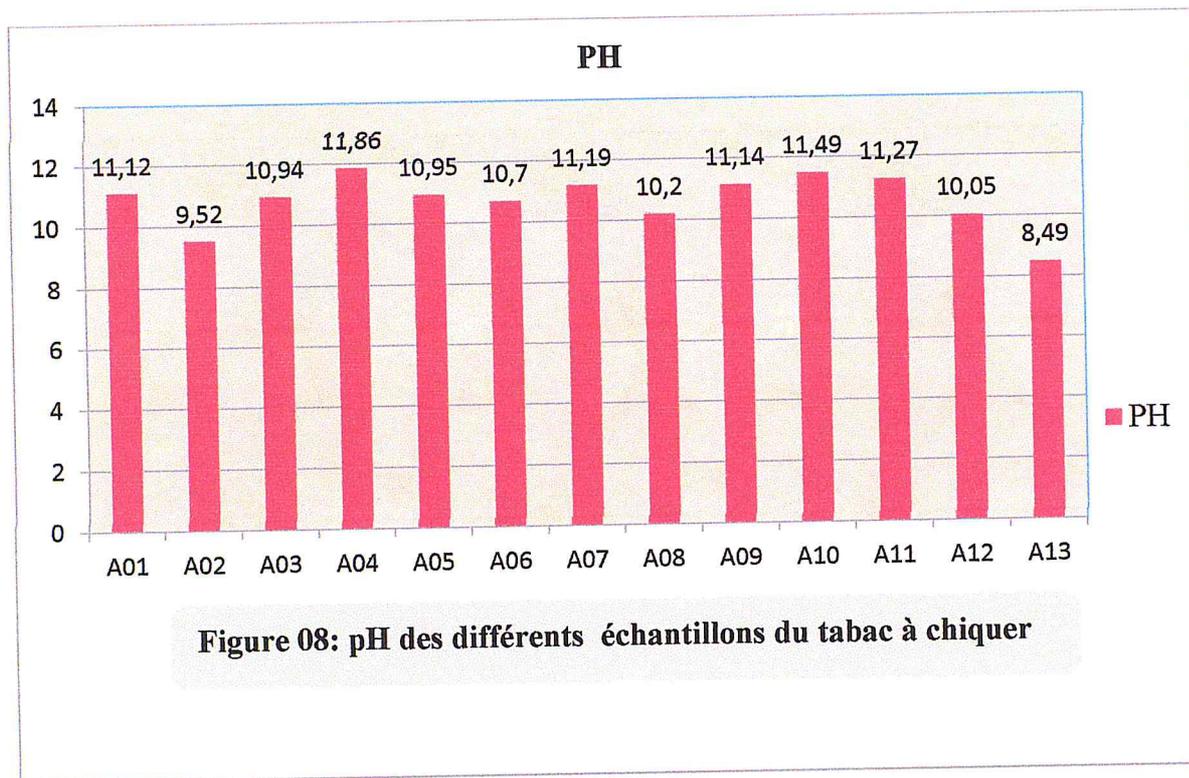


Tableau 04: pH des différents échantillons de cette étude

TVES-TVESB	TVES	TELI	TOS	TNES	TBES	C.H.C.B.F.04	TVESB
	5.60 ± 0.0058	4.77 ± 0.0058	5.64 ± 0.0058	5.11 ± 0.0058	5.66 ± 0.0058	5.28 ± 0.0058	6.76 ± 0.0058
PTCA	5.26 ± 0.036						
C.EDGE-MN	C.EDGE		C.N		M.N	M.L	
	5.28 ± 0.0058		5.33 ± 0.0058		5.77 ± 0.015	5.78 ± 0.0058	
Cendres – lentisque	Cendres		Ficus carica L		Ficus carica		Lentisque
	11.76 ± 0.0058		6.57 ± 0.46		8.06 ± 0.0058		4.04 ± 0.031

L'analyse des valeurs des pH des différents échantillons mène aux remarques suivantes :

- 1) Le pH des échantillons de tabac à chiquer commerciaux (A01-A12) est **basique** avec des valeurs qui varient entre **9.52-11.86**.
- 2) Le pH des cigarettes commerciales ainsi que les feuilles de tabac utilisées par les industriels est **acide** avec des valeurs qui varient entre **4.77-6.76**.
- 3) Le pH des additifs usuellement ajoutés dans la formulation artisanale du tabac à chiquer varient entre **4.07-11.76**.
- 4) Va l'aspect **acide** de la majorité des plantes utilisées dans la fabrication du tabac à chiquer et le caractère **basique** de toutes les marques commerciales de tabac à chiquer (A01-A12), on peut confirmer la présence des cendres, en tant que seule entité à pH **basique** de **11.76**, dans les échantillons. On peut même conclure que la variation du pH des échantillons commerciaux de tabac à chiquer (A01-A12) est due à la différence du taux des cendres présent dans les échantillons.

III.1.2. Taux d'humidité dans les échantillons commerciaux de tabac à chiquer par gravimétrie

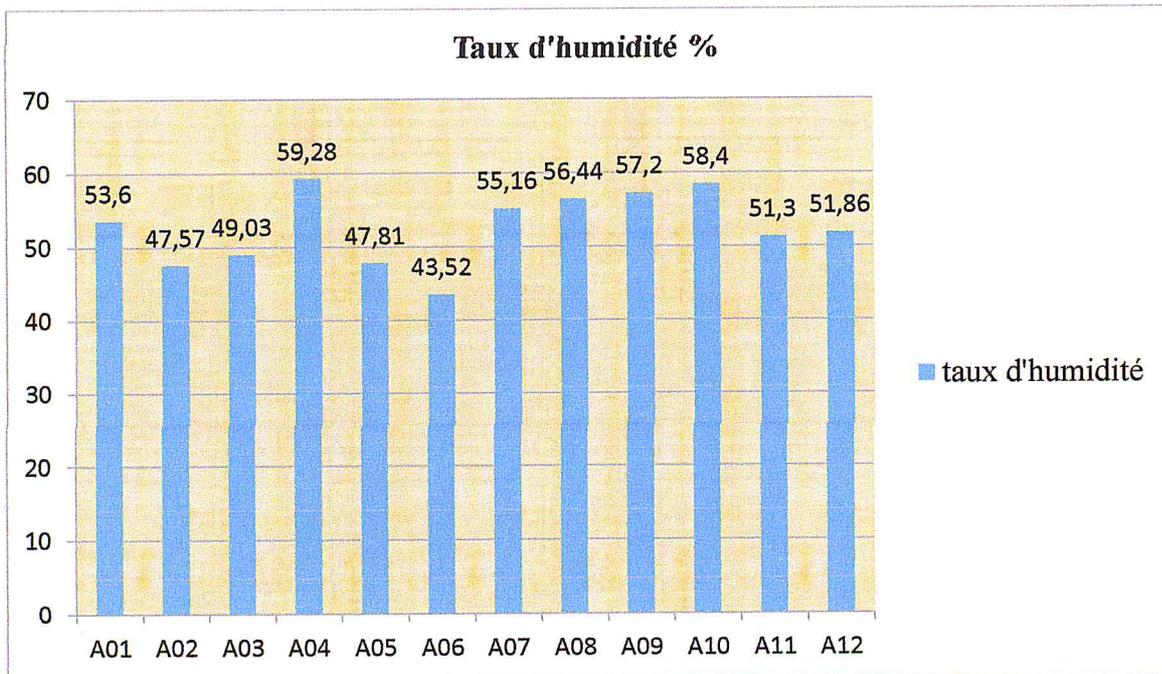


Figure 09: Taux d'humidité dans les échantillons commerciaux de tabac à chiquer par gravimétrie

On remarque que les taux d'humidité d'échantillons commerciaux de tabac à chiquer par gravimétrie varient entre les valeurs 43.52 et 59.28 %.

III.1.3. Teneur en cendre de tabac à chiquer par gravimétrie

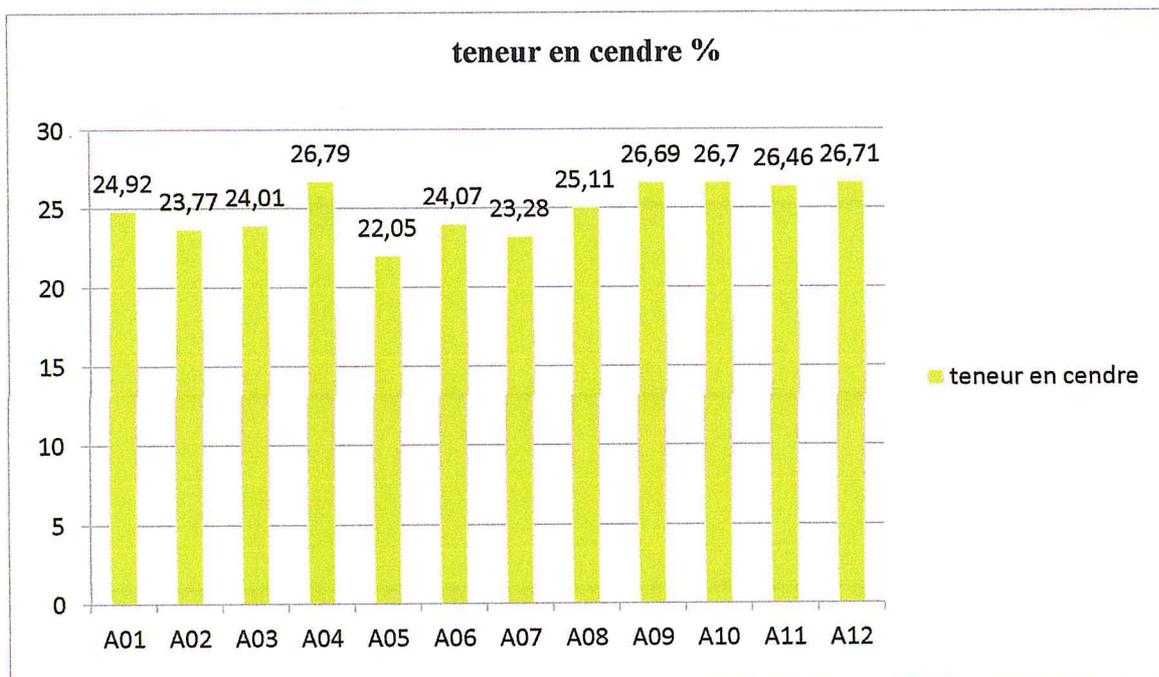


Figure 10: Teneur en cendre de tabac à chiquer par gravimétrie

Nous constatons que la teneur en cendre de tabac à chiquer par gravimétrie varie entre 22.05 et 26.79 %.

III.2. Analyse qualitative des différents échantillons de tabac par spectrométrie IRTF

Réellement les échantillons ont été analysés par spectrométrie IRTF en considérant le mode de transmission en phase solide et en phase liquide, et le mode ATR-IRTF.

Nous nous basons, dans cette étude, sur les résultats obtenus par ATR-IRTF étant plus adéquat pour l'échantillonnage et nous exposons les résultats préliminaires obtenus par transmission en phase liquide.

III.2.1. Analyse en mode transmission en phase liquide

Nous avons analysé les différents échantillons de tabac à chiquer, feuilles de tabac, cigarettes, et différents additifs stockés dans CH_2Cl_2 par spectrométrie IRTF. Les spectres sont montrés dans les figures 11- 14.

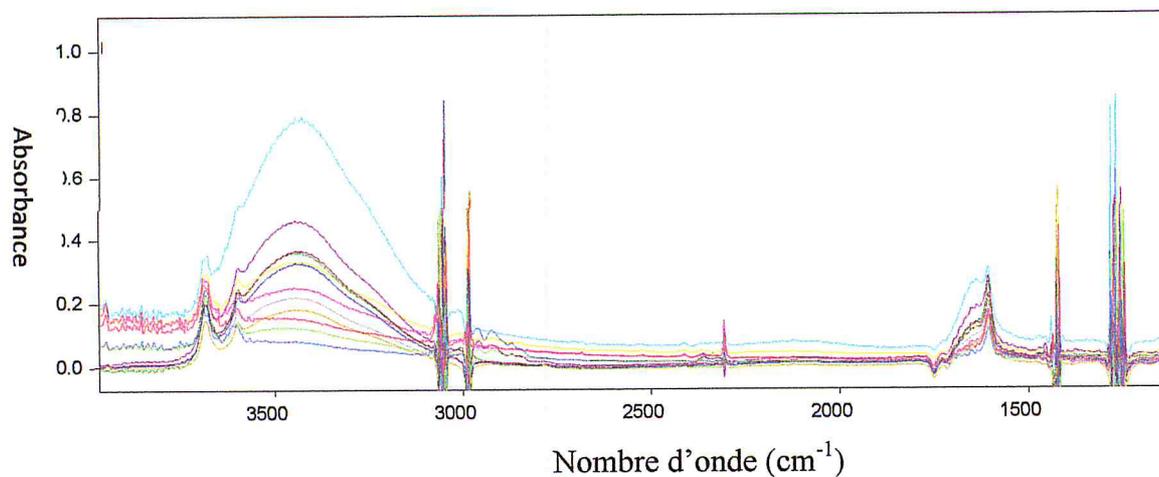


Figure 11: Spectres IRTF des 12 échantillons commerciaux de tabac à chiquer dans CH_2Cl_2

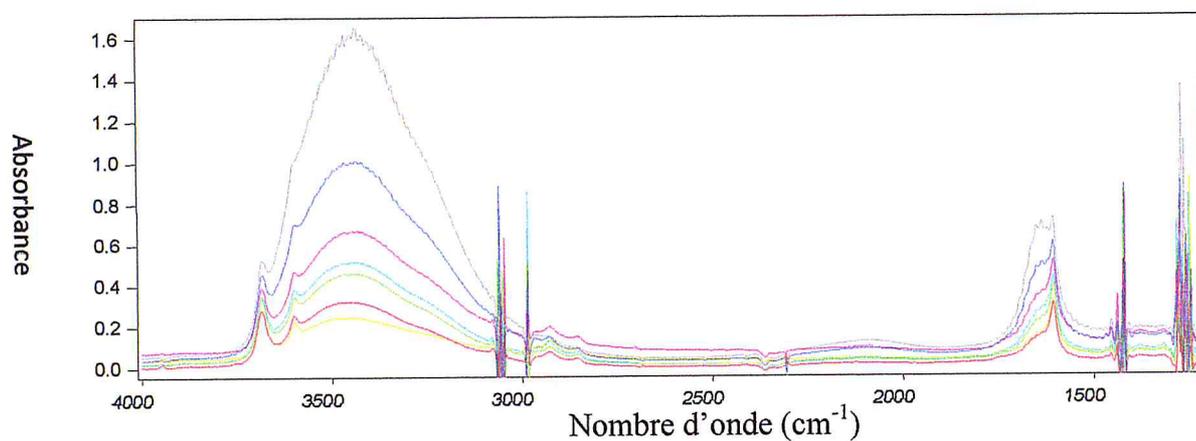


Figure 12: Spectres IRTF des feuilles de tabac industriels dans CH_2Cl_2

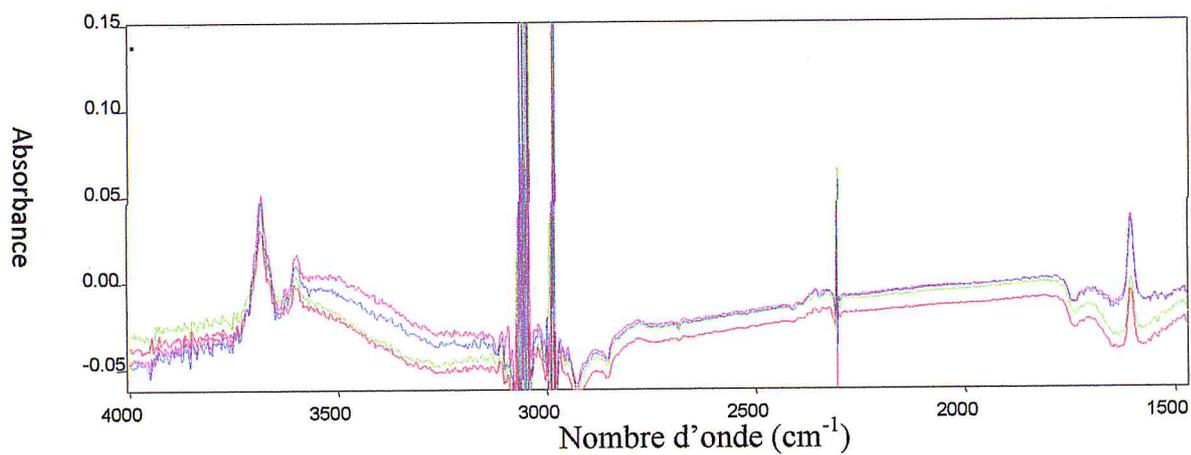


Figure 13: Spectres IRTF des cigarettes dans CH_2Cl_2

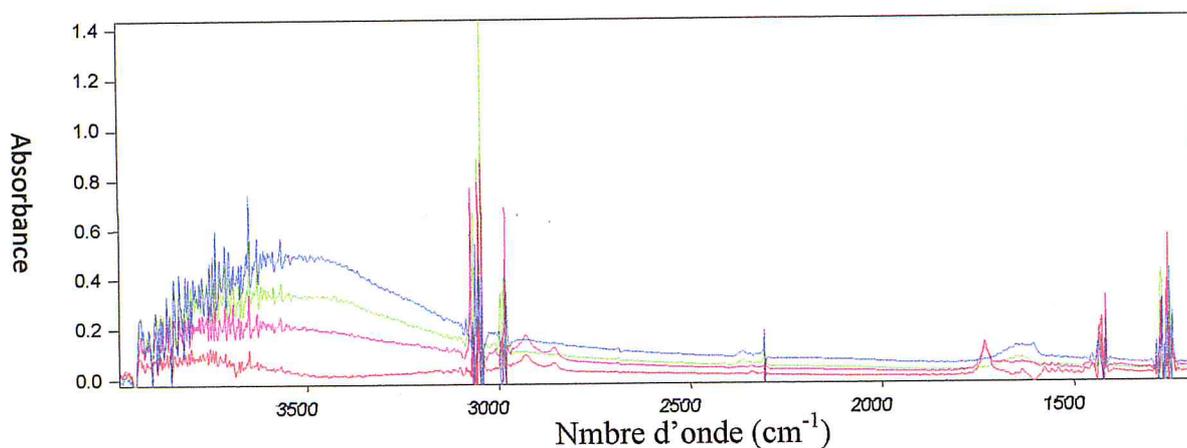


Figure 14: Spectres IRTF des additifs dans CH_2Cl_2

Les spectres IRTF des différents échantillons en phase liquide donnent des bandes communes vers $3440\text{-}3686\text{ cm}^{-1}$ et vers 1605 cm^{-1} qui peuvent être liées essentiellement à la présence d'eau dans les échantillons mais ces spectres ne donnent pas des bandes spécifiques permettant la distinction et la différenciation entre les différents échantillons. Il reste clair que pour une étude plus approfondie procéder à la concentration des échantillons, par la diminution des volumes de dilution, afin d'avoir des teneurs en dessus des limites de détections.

Au cours de notre travail, nous avons analysé des différents échantillons par la spectrométrie d'IRTF et ATR-IRTF en phase solide, mais on a basé beaucoup plus sur les résultats de l'ATR-IRTF à cause de l'exactitude et la fiabilité de ces derniers.

III.3. Analyse qualitative des différents échantillons de tabac par spectrométrie ATR-IRTF

III.3.1. Différence spectrale des deux échantillons de la marque agréée

Il y a lieu de noter que dans le marché de tabac à chiquer, il y a une seule marque agréée par l'état mais qui se présente sous deux formes de conditionnement.

La comparaison des deux spectres ATR-IRTF (figure 15) montre une différence évidente aux bandes comprises entre 1518-1338 (1419) et 1280-932 (1048) cm^{-1} . Ceci peut être dû à la différence dans la composition chimique ou à la différence de la teneur en eau.

Pour tirer au clair, les spectres ATR-IRTF d'une même marque A01 séchée ou humides ont été obtenus (figure 16).

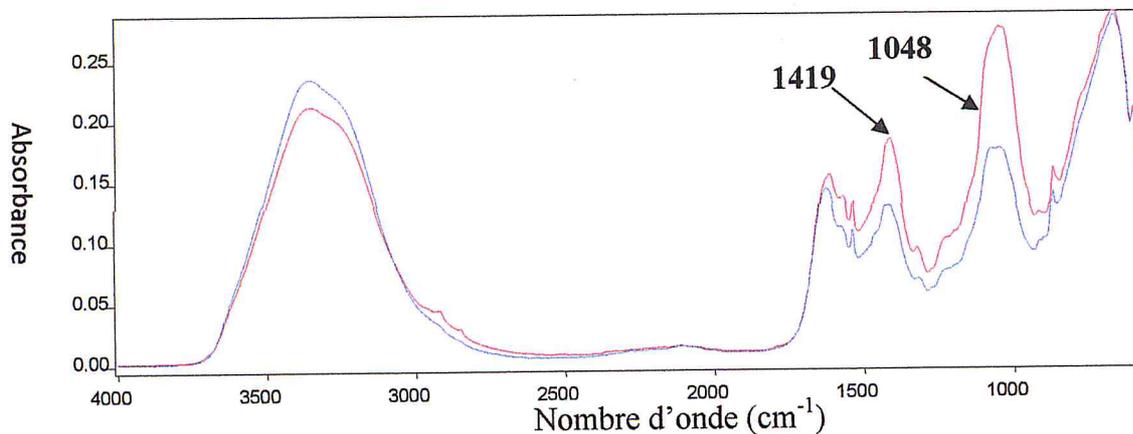


Figure 15: Spectres ATR-IRTF des deux échantillons de tabac à chiquer de la marque agréée A01 « bleu » et A02 « rouge »

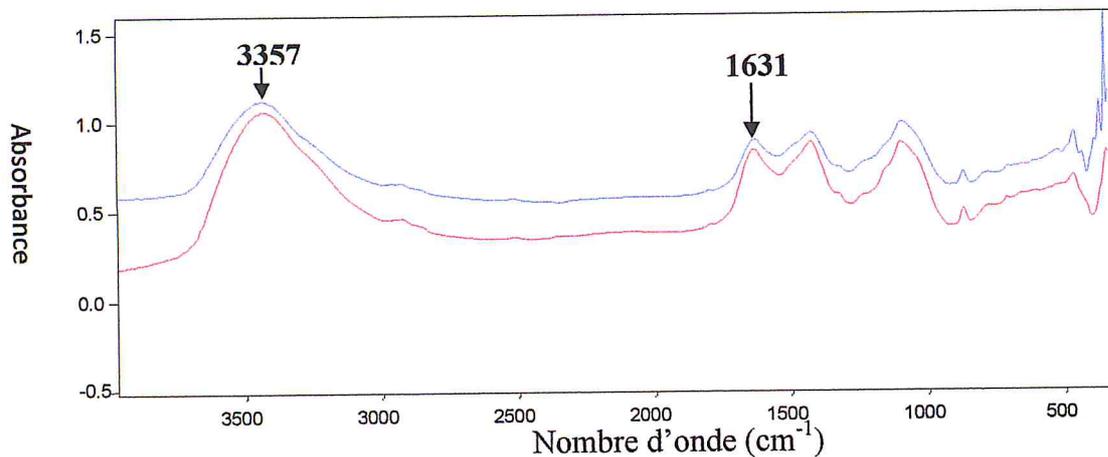


Figure 16: Spectres IRTF de tabac à chiquer A01 sèche « bleu » et A01 humide « rouge »

Les spectres de la figure (16) montrent que les bandes spécifiques à l'eau, vers 3400 et 1602 cm^{-1} , sont masquées par les bandes à 3357 et 1631 cm^{-1} , ceci ne permet pas de détecter la différence en eau. De ce fait, les différences à 1419 et 1048 cm^{-1} peuvent être retenue comme analyse de **détection de fraude** entre les deux échantillons commerciaux A01 et A02 que normalement ne devraient présenter aucune différence spectrale car il s'agit de la même marque.

III.3.2. Calcul des taux des principaux groupements fonctionnels des différents échantillons commerciaux de tabac à chiquer

Afin d'évaluer quantitativement la différence entre les échantillons commerciaux de tabac à chiquer, nous avons adopté le calcul des taux des principaux groupements fonctionnels.

Les absorbances relatives (A_R) pour les principales bandes d'absorption seront calculées selon l'équation 1, afin de comparer les variations des pourcentages des groupements fonctionnels avec les changements des spectres.

$$A_R = \frac{A_{\bar{\nu}}}{A_{\bar{\nu}\text{réf}}} \times 100\% \quad (1)$$

A_R : absorbance relative de la bande d'absorption.

$A_{\bar{\nu}}$: absorbance à la fréquence considérée $\bar{\nu}$.

$A_{\bar{\nu}\text{réf}}$: absorbance à la bande de référence, l'absorbance devrait être constante dans tous les spectres.

Pour cela, nous procédons aux intégrations afin de sélectionner le mode d'intégration adéquat et de choisir la bande référence pour les calculs.

Pour cette étude nous avons estimé les modes d'intégration « R et B et H », montrés ci-dessous adéquats pour effectuer les calculs.

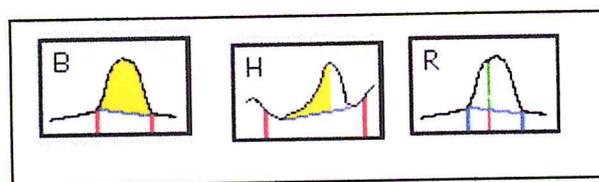


Figure 17: Les trois modes d'intégration utilisés

Les spectres de la figure (18) montrent les fréquences sélectionnées pour les différentes intégrations.

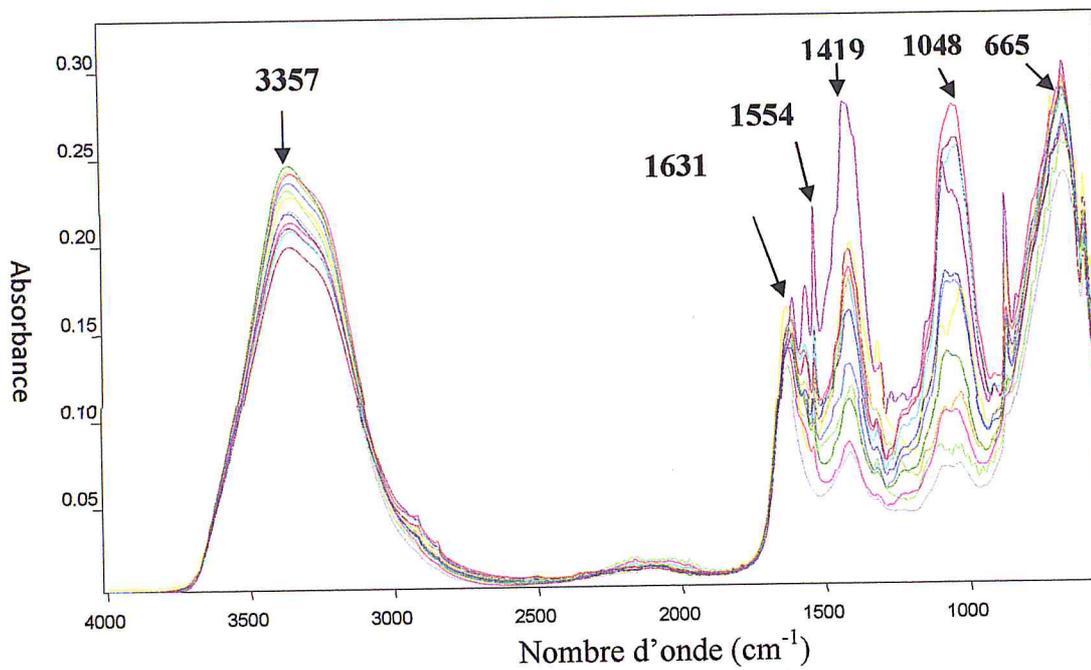


Figure 18: Spectres ATR-IRTF des différents échantillons commerciaux (A01-A12) de tabac à chiquer

Les tableaux (5-7) montrent les valeurs des réponses analytiques (hauteur ou aire) en considérant les différents modes d'intégration (R, B et H).

Tableau 05: Valeurs d'absorbance aux différentes bandes des échantillons commerciaux de tabac à chiquer par ATR-IRTF en considérant le mode R (absorbance corrigée avec une ligne de base adéquate)

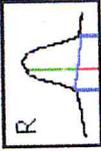
	Max : 3357 3800-2400	Max : 1631 1773-1991	Max : 1596 1596-1518	Max : 1554 1554 -1518	Max : 1419 1518 -1338	Max : 1322 1338 -1277	Max : 1048 1277 -932	Max : 891 932 -891	Max : 875 891-851	Max 665 851-618
A01	0.223	0.117	0.006	0.016	0.053	0.003	0.095	0.003	0.025	0.100
A02	0.209	0.120	0.009	0.017	0.086	0.008	0.173	0.002	0.024	0.102
A03	0.239	0.117	0.000	0.007	0.026	0.002	0.038	0.000	0.007	0.101
A04	0.228	0.113	0.000	0.000	0.041	0.009	0.015	0.000	0.026	0.076
A05	0.204	0.119	0.014	0.034	0.084	0.009	0.153	0.003	0.029	0.096
A06	0.222	0.121	0.000	0.000	0.085	0.024	0.065	0.000	0.065	0.098
A07	0.237	0.114	0.006	0.019	0.078	0.004	0.028	0.000	0.037	0.100
A08	0.217	0.106	0.000	0.000	0.026	0.002	0.013	0.000	0.010	0.082
A09	0.214	0.110	0.007	0.019	0.072	0.004	0.075	0.002	0.044	0.087
A10	0.195	0.109	0.015	0.033	0.096	0.007	0.130	0.000	0.034	0.097
A11	0.206	0.131	0.030	0.062	0.141	0.008	0.094	0.009	0.095	0.103
A12	0.243	0.124	0.000	0.012	0.040	0.003	0.047	0.000	0.011	0.100

Tableau 06 : Valeurs de l'aire aux différentes bandes des échantillons commerciaux de tabac à chiquer par ATR-IRTF en considèrent le mode B (aire de pic à une fréquence donnée entre deux points sélectionnés)

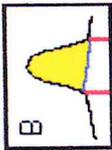
	3700-2820 Max : 3357	1720-1596 Max : 1631	1596-1554 Max : 1595	1554-1518 Max : 1554	1518-1338 Max : 1419	1338-1277 Max : 1322	1277-932 Max : 1048	932-891 Max : 891	891-851 Max : 875	851-618 Max : 665
A01	94.350	3.387	0.131	0.168	4.557	0.000	11.959	0.039	0.354	13.530
A02	85.121	2.754	0.204	0.168	6.962	0.169	21.722	0.015	0.401	13.560
A03	97.673	6.786	0.000	0.169	1.869	0.000	4.495	0.000	0.092	13.660
A04	91.004	3.600	0.000	0.000	3.112	0.130	1.611	0.000	0.400	10.001
A05	84.290	2.827	0.295	0.414	6.670	0.032	19.955	0.038	0.416	12.582
A06	90.098	8.419	0.000	0.000	0.000	0.398	13.590	0.000	1.083	11.741
A07	96.080	3.421	0.131	0.223	6.455	0.000	4.204	0.008	0.646	12.540
A08	87.505	6.707	0.000	0.000	2.117	0.014	2.059	0.000	0.162	11.152
A09	87.202	3.174	0.147	0.202	6.128	0.000	12.771	0.033	0.643	11.183
A10	79.760	2.718	0.303	0.419	7.899	0.000	20.308	0.068	0.565	12.630
A11	84.450	2.482	0.584	0.783	12.953	0.021	17.029	0.130	1.454	12.360
A12	97.735	7.178	0.000	0.132	0.000	0.006	7.657	0.000	0.176	13.044

Tableau 07: Valeurs de l'aire aux différentes bandes des échantillons commerciaux de tabac à chiquer par ATR-IRTF en considérant le mode H (aire de volet gauche d'une fréquence donnée entre deux points sélectionnés)

H	3700-2820 Max : 3357	1720-1596 Max : 1631	1596-1554 Max : 1595	1554-1518 Max : 1554	1518-1338 Max : 1419	1338-1277 Max : 1322	1277-932 Max : 1048	932-891 Max : 891	891-851 Max : 875	851-618 Max : 665
A01	42.075	0.894	0.000	0.072	2.356	0.018	8.417	0.039	0.141	1.201
A02	38.110	0.187	0.000	0.074	3.664	0.062	14.755	0.022	0.182	1.222
A03	43.684	1.380	0.000	0.000	0.949	0.000	3.369	0.000	0.092	1.148
A04	40.351	1.182	0.000	0.000	1.765	0.055	1.513	0.000	0.176	0.657
A05	37.897	0.299	0.114	0.186	2.754	0.066	14.928	0.022	0.170	0.978
A06	41.777	1.651	0.000	0.000	3.915	0.185	7.740	0.001	0.517	-0.22
A07	42.510	0.831	0.000	0.100	3.407	0.000	3.279	0.008	0.295	0.232
A08	39.152	1.777	0.000	0.000	1.171	0.000	1.882	0.000	0.162	0.822
A09	38.870	1.006	0.000	0.101	3.385	0.029	5.995	0.033	0.287	0.769
A10	35.951	0.349	0.148	0.180	3.986	0.052	15.242	0.041	0.270	0.817
A11	37.448	-0.209	0.344	0.335	5.097	0.000	6.673	0.063	0.645	-0.31
A12	43.143	1.081	0.000	0.045	1.580	0.017	3.756	0.000	0.176	1.055

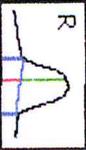
R 	Les autres marques des échantillons commerciaux de tabac à chiquer													
	Marque agréée		A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10	A11	A12
*L.B **Max	Groupement fonctionnels													
3800-2400														
3357 cm ⁻¹	OH	199,15	174,17	204,27	201,77	171,43	183,47	207,89	204,72	194,55	178,89	157,25	195,97	
1596-1554														
1631 cm ⁻¹	C=C alcène	5,13	7,50	0,00	0,00	11,76	0,00	5,26	0,00	6,36	13,76	22,90	0,00	
1554-1518	C=C													
1596 cm ⁻¹	aromatique	13,68	14,17	5,98	0,00	28,57	0,00	16,67	0,00	17,27	30,27	47,33	9,68	
1338-1277														
1554 cm ⁻¹	CH ₂ et CH ₃	2,56	6,67	1,71	7,96	7,56	19,83	3,51	1,89	3,64	6,42	6,11	2,42	
932-891														
891 cm ⁻¹	-CH=CH ₂	2,56	1,67	0,00	0,00	2,52	0,00	0,00	0,00	1,82	0,00	6,87	0,00	
891-851														
875 cm ⁻¹	C-N et N-H	21,37	20,00	5,98	23,01	24,37	53,72	32,46	9,43	40,00	31,19	72,52	8,87	
851-618	IH													
665 cm ⁻¹	aromatique isole	85,47	85,00	86,32	67,26	80,67	80,99	87,72	77,36	79,09	88,99	78,63	78,23	
1518-1338	OH													
1419 cm ⁻¹	Is/phénols	45,30	71,67	22,22	36,28	70,59	70,25	68,42	24,53	65,45	88,07	107,63	32,26	
1277-934														
1048 cm ⁻¹	C-O	81,19	144,17	32,48	13,27	128,57	53,72	24,56	12,26	68,18	119,27	71,76	37,90	

Tableau 08: Taux des principaux groupements fonctionnels des différents échantillons commerciaux de tabac à chiquer, en utilisant le **mode R**

* L.B : Ligne de Base de correction des valeurs d'absorbance

** Max : fréquence Maximale d'absorbance

L'analyse des résultats des tableaux (5-7) nous a mène à choisir le mode d'intégration R corrigée, car il fournit une réponse analytique presque constante pour la bande à 1631 cm^{-1} qui peut être considère comme bande référence pour les calculs des principaux groupements fonctionnels des différents échantillons de tabac à chiquer.

- ❖ Les taux des principaux groupements fonctionnels des différents échantillons commerciaux de tabac à chiquer en considérant le mode R sont résume dans le tableau 8.
- ❖ La similitude des valeurs des taux à différentes fréquences peut permettre le classement des échantillons en sous groupes similaires.
- ❖ Pour cette étude nous nous limitons à l'exploitation des bandes à 1419 et 1048 cm^{-1} car elles permettent la détection de la fraude comme ça été indique en section de différence spectrale des deux échantillons de marque agréée, les spectres des échantillons commerciaux seront partagés en groupes comme illustré ci-dessous :
 - En exploitation la bande à 1419 cm^{-1} : chaque groupe présente la même bande, en termes d'allure et d'intensité.

G1 : A01 -A04-A12	G3 : A02 -A05-A06-A07-A09-A10
G2 : A03-A08	G 4 : A11

- En exploitation la bande à 1048 cm^{-1} : chaque groupe présente la même bande, en termes d'allure et d'intensité.

G 1 : A01 -A09-A11	G 3 : A03-A12	G 5 : A06-A09
G2 : A02 -A05-A10	G 4 : A04-A08-A07	

La comparaison des groupes de spectres obtenus en exploitant les bandes à 1419 et 1048 cm^{-1} font aboutir aux conclusions suivantes :

- 1) Les deux formes commerciales de la même marque agréée (**A01** et **A02**) sont différentes, du fait qu'ils n'appartiennent pas aux mêmes groupes. Ceci se confirme avec la différence

des prix d'achat dans le marché national, on peut conclure que **A01 (150 DA)** et la vraie marque agréée alors que **A02 (80 DA)** est le produit trafiqué.

2) Aucune marque commerciale n'est identique à la seule marque agréée par l'état A01.

3) Les différentes marques commerciales présentent généralement des formulations différentes.

4) La concordance entre les groupes obtenus en exploitant les bandes à **1419** et **1048 cm^{-1}** à indique que deux groupes d'échantillons « **A02, A05 et A10** » et « **A06, A09** » présentent pratiquement les mêmes formulations.

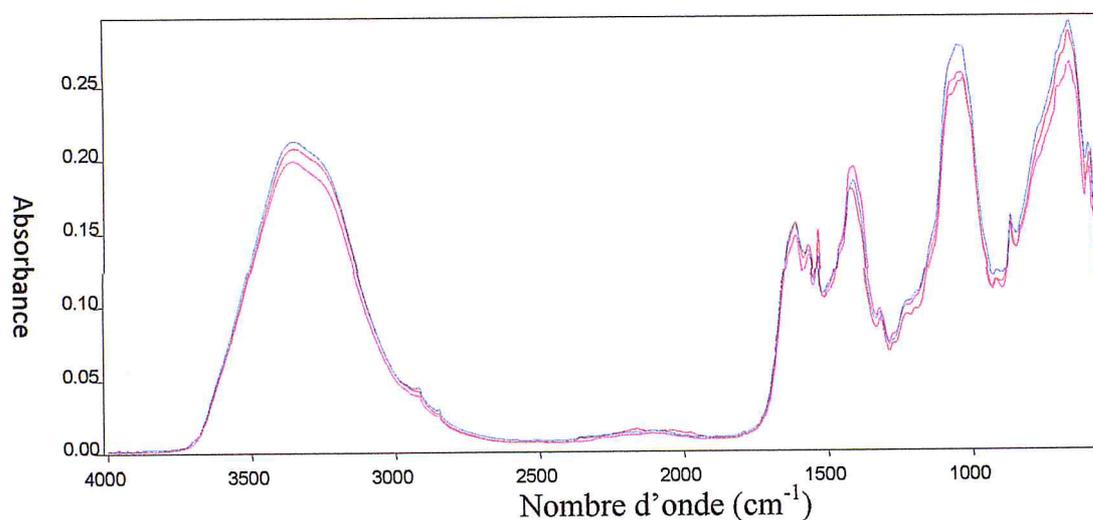


Figure 19: Spectres ATR-IRTF des échantillons de tabac à chiquer A02 « bleu » et A05 « rouge » et A10 « violet »

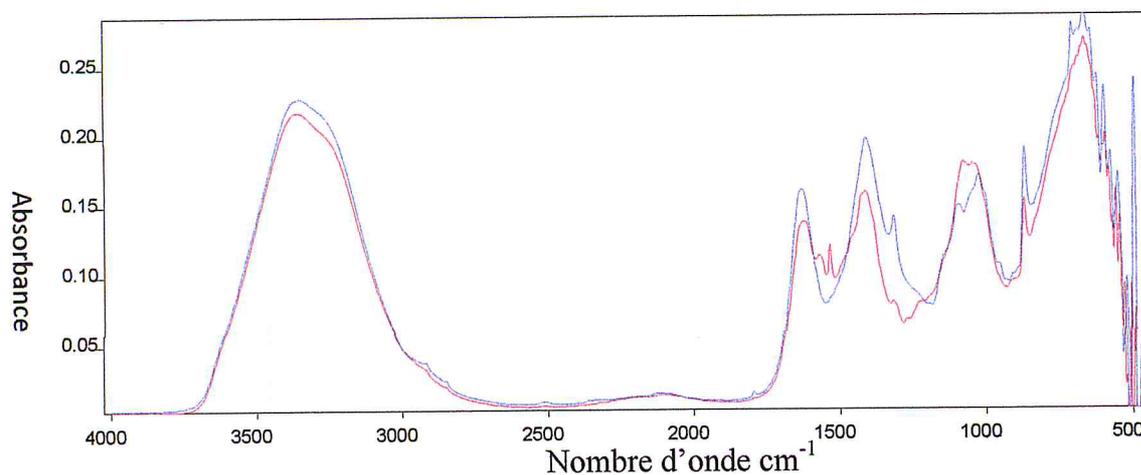


Figure 20: Spectres ATR-IRTF de tabac à chiquer A06 « bleu » et A09 « rouge »

III.3.3. Détection des différentes fraudes des échantillons commerciaux de tabac à chiquer par ATR-IRTF

L'enquête que nous avons menée sur la composante du tabac à chiquer traditionnelle commercialisée a révélé que la majorité des fabricants utilisent :

- ❖ La chaux الجير
- ❖ L'espèce PTCA
- ❖ L'espèce ficus carica L الكرمة الحر
- ❖ L'espèce ficus carica الكرمة البرهوشة
- ❖ Les cendres de l'espèce ficus carica الرماد

Ces produits sont considérés comme les produits de fraude. Nous allons essayer à travers cette étude, de détecter chaque type de fraude par ATR-IRTF.

III.3.3.1. Détection de la chaux

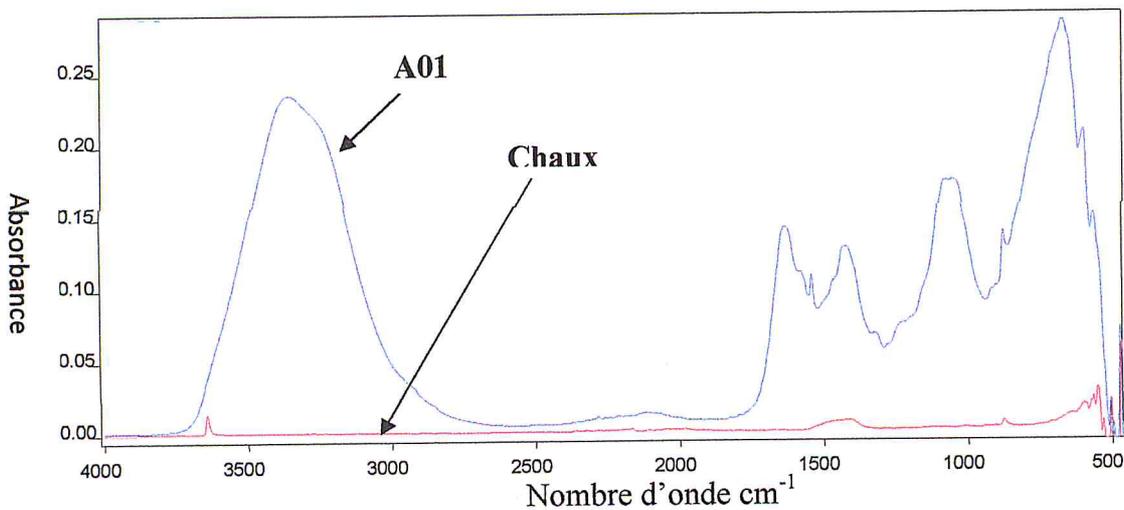


Figure 21: Spectres ATR-IRTF de la marque agréée « A01 » et de la chaux

Bien que la formulation traditionnelle du tabac à chiquer indique l'utilisation de la chaux, l'analyse par ATR-IRTF ne permet pas la détection de cette dernière.

II.3.3.2. Identification de l'espèce utilisée dans la fabrication du tabac à chiquer traditionnel

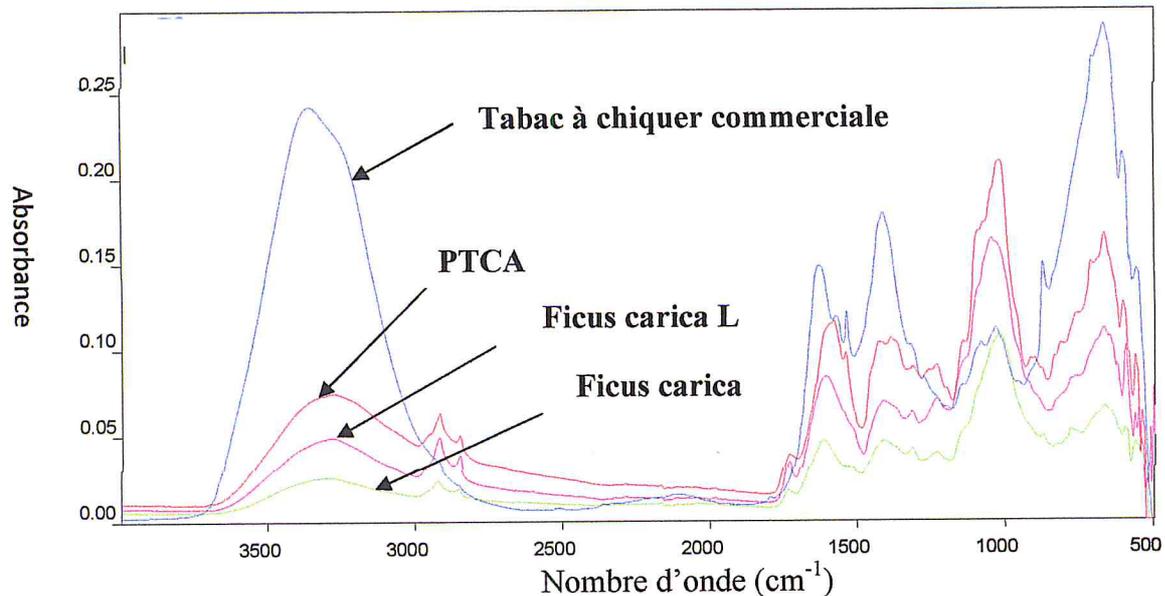


Figure 22: Spectres ATR-IRTF du tabac à chiquer commerciale et feuille PTCA et ficus carica L, ficus carica

La similitude des spectres des trois plantes à savoir PTCA, ficus carica L, ficus carica avec le spectre de la chique commerciale laisse croire qu'effectivement l'une ou l'autre pourrait être utilisée dans la fabrication de tabac à chiquer artisanale.

III.3.3.3. Détection des cendres

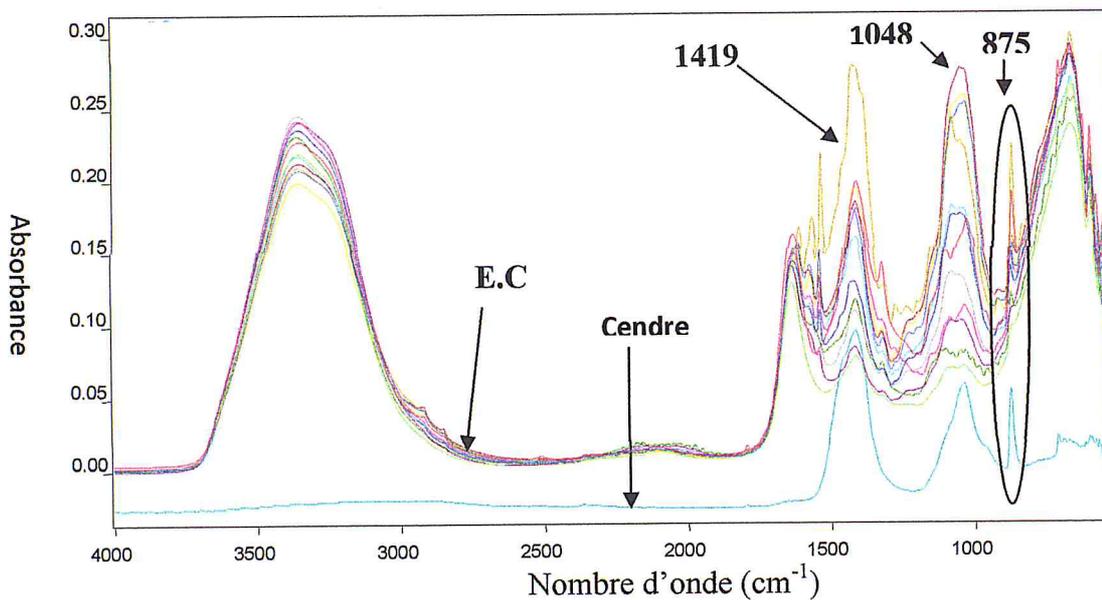


Figure 23: Spectres ATR-IRTF du tabac à chiquer commerciales (E.C) et les cendres

La comparaison des spectres des échantillons commerciaux de tabac à chiquer avec celui des cendres illustre que la différence des bandes à 1419 ,1048 et à 875 cm^{-1} sont due à la différence en proportion des cendres.

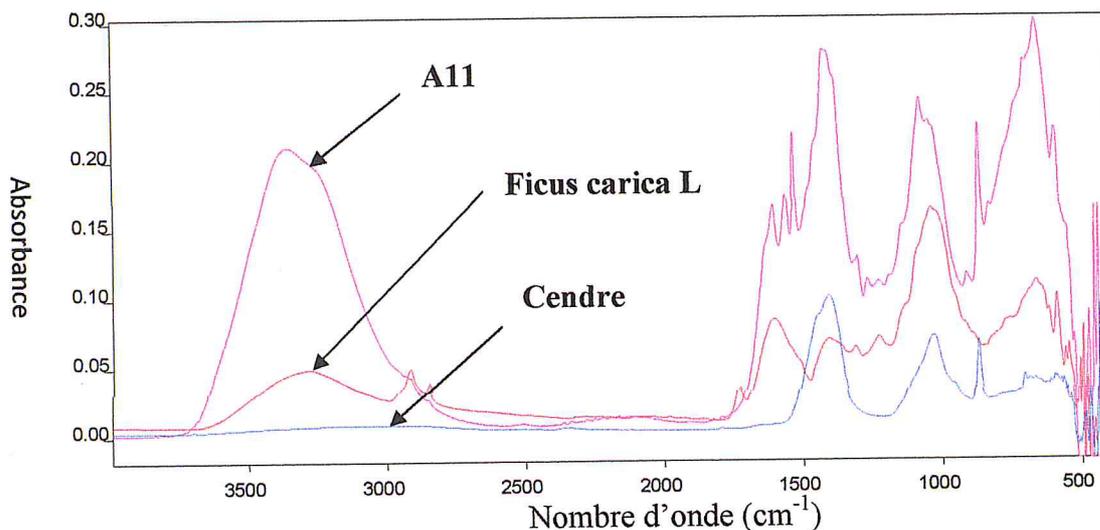


Figure 24: Spectres ATR-IRTF du tabac à chique A11, des cendres et ficus carica L

L'allure étroite de la bande à 875 cm^{-1} pour l'échantillon commercial et l'absence de la bande pour la feuille de ficus carica L confirme que la bande à 875 cm^{-1} spécifique à la présence des cendres.

Suite à ce qui précède, on peut confirmer qu'une partie des résultats du tableau 8 relative à l' A_R à 875 cm^{-1} (montrée ci-dessous) permet la quantification de taux des cendres dans les formulations commerciales. Nous constatons que la variation du taux des cendres est très large allant de 5,98 à 72,52.

Echantillons	A01	A.2	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10	A11	A12
891-851												
875 cm^{-1}	21.37	20.00	5.98	23.01	24.37	53.72	32.46	9.43	40.00	31.19	72.52	8.87

III.3.3.4.Spectre ATR-IRTF d'une formulation préparée au sein du laboratoire

Afin de confirmer la composante de la chiquer commerciale, nous avons obtenu le spectre ATR-IRTF d'une formulation de tabac à chiquer préparé au sein de notre laboratoire en mélangeant ($\frac{3}{4}$ PTCA + $\frac{1}{4}$ cendre + eau)

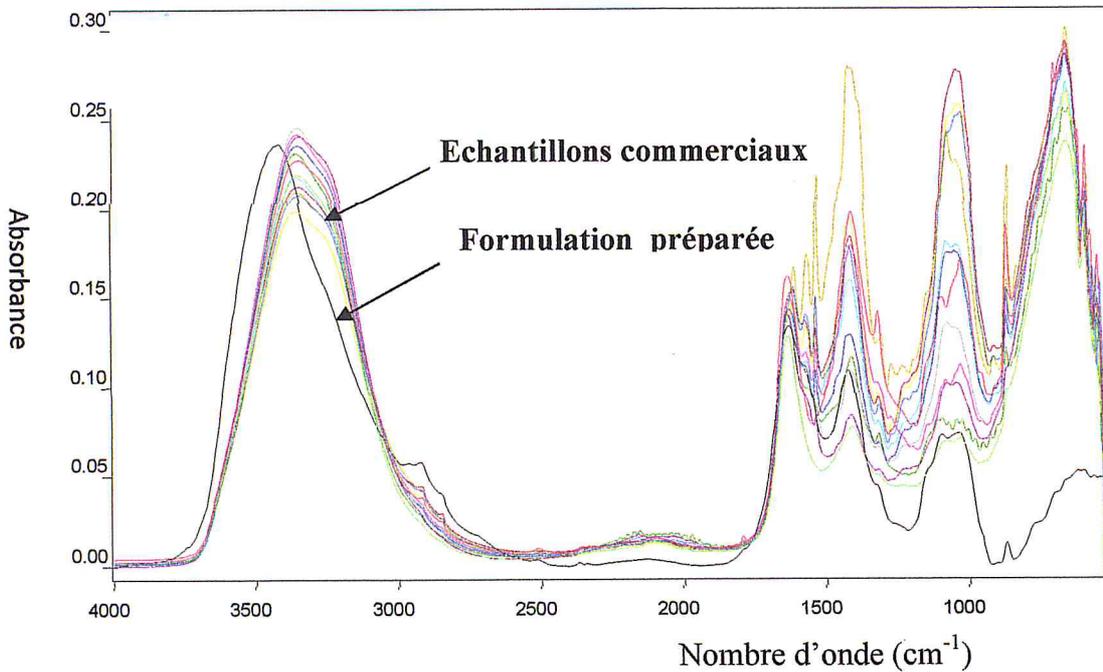


Figure 25: Spectres ATR-IRTF du tabac à chiquer commerciaux et la formulation « Préparé »

En comparant les spectres des échantillons commerciaux avec notre formulation, nous avons tiré les conclusions suivantes :

1) L'allure du spectre de la formulation « préparé » est proche des échantillons commerciaux ce qui laisse supposer que la plante PTCA est utilisée pour la préparation de la chique traditionnelle. D'autant plus que l'allure du spectre des feuilles de tabac et celui de la plante *ficus carica L* sont identiques.

2) Cependant, la différence des bandes vers 3357 cm^{-1} et l'intensité des bandes à 665 cm^{-1} confirment la présence d'autres produits non identifiés.

III.3.3.5. Identification spectrale des additifs du tabac à chiquer

Nous avons réalisé une recherche spectrale sur la base de données « HRN Nicolet sampler librarg », pour détecter éventuellement les composés servant d'additifs au tabac à chiquer, et justifier la présence de bandes 3357 et 665 cm^{-1} , et les spectres de la figure 26 laissent supposer que les bandes à 3357 et 665 cm^{-1} marquent la présence de glycérol et de sucre.

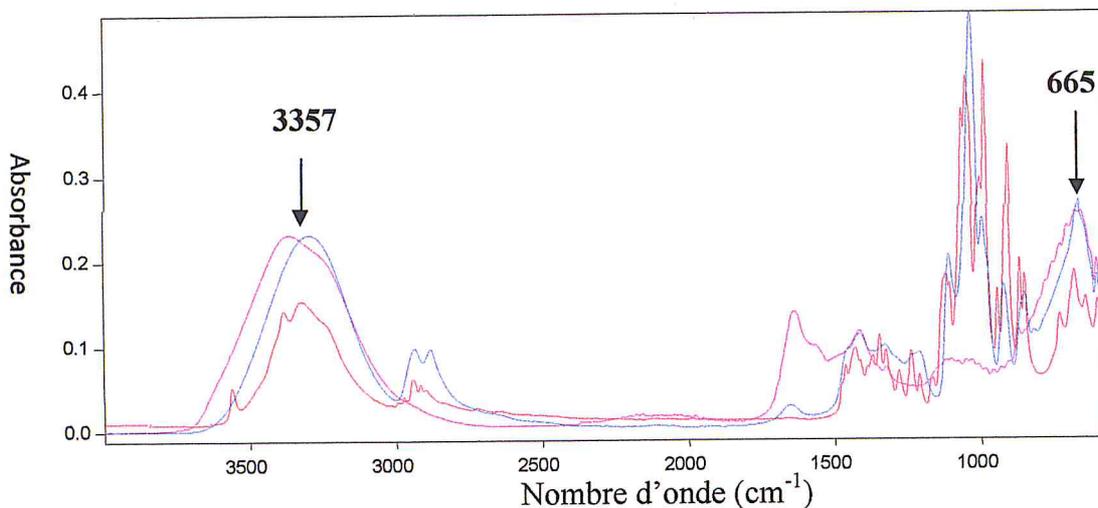


Figure 26: Spectres ATR-IRTF du glycérol (bleu) du sucre (rouge) et échantillon A04 (violet)

L'addition de sucre dans le tabac à chiquer peut-être justifier par l'accentuation de l'effet de dépendance en stimulant les neurones qui sécrètent de la dopamine, une molécule qui assure la communication entre certaines cellules nerveuses, et influence alors des fonctions comportementales, tel le désir de renouveler l'expérience du goût sucré.

III.3.3.6. Reconstitution spectrale de la chique

Connaissant grosso-mode la composante de la chique artisanale, nous avons tanté la reconstitution spectrale d'une marque de chique commerciale.

Les spectres de la figures 27 et 28 illustre la similitude, de spectre de la chique commerciale et le spectre de reconstitution obtenu par l'addition des spectres des composantes principales de la chique commerciale traditionnelle à savoir : ficus carica L, cendre, lentisque, sucre ou bien que ficus carica L, cendre, lentisque.

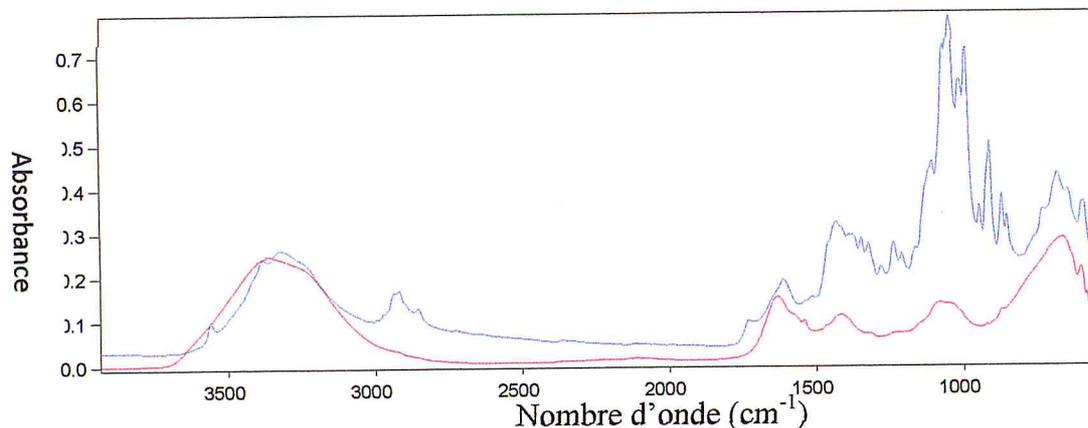


Figure 27: Spectre ATR-IRTF d'échantillon A12 « rouge » et reconstitution « bleu »

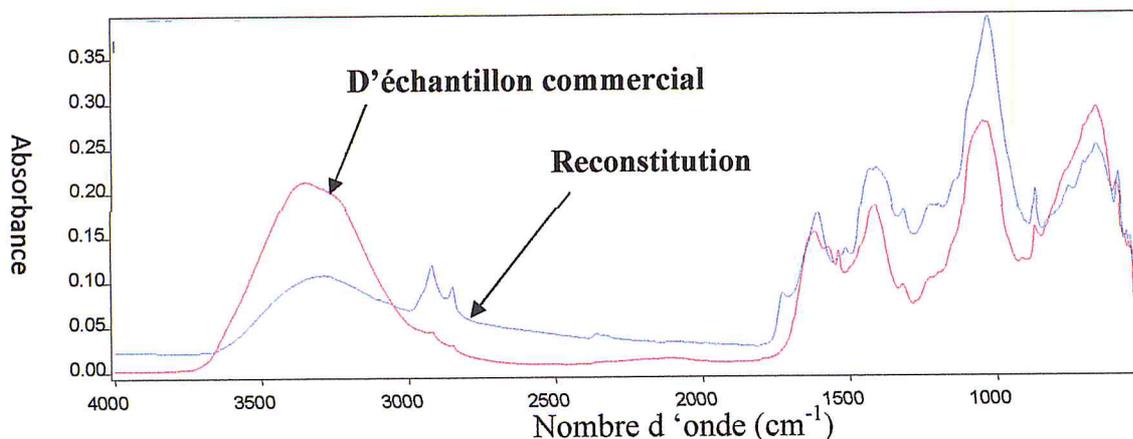


Figure 28: Spectre ATR-IRTF d'échantillon commercial et reconstitution

III.3.4. Type de plante utilisée dans la formulation de tabac à chiquer

Il nous a paru important, dans cette étude, de vérifier les plantes industrielles ont été utilisées dans la fabrication de échantillons commerciaux de tabac à chiquer.

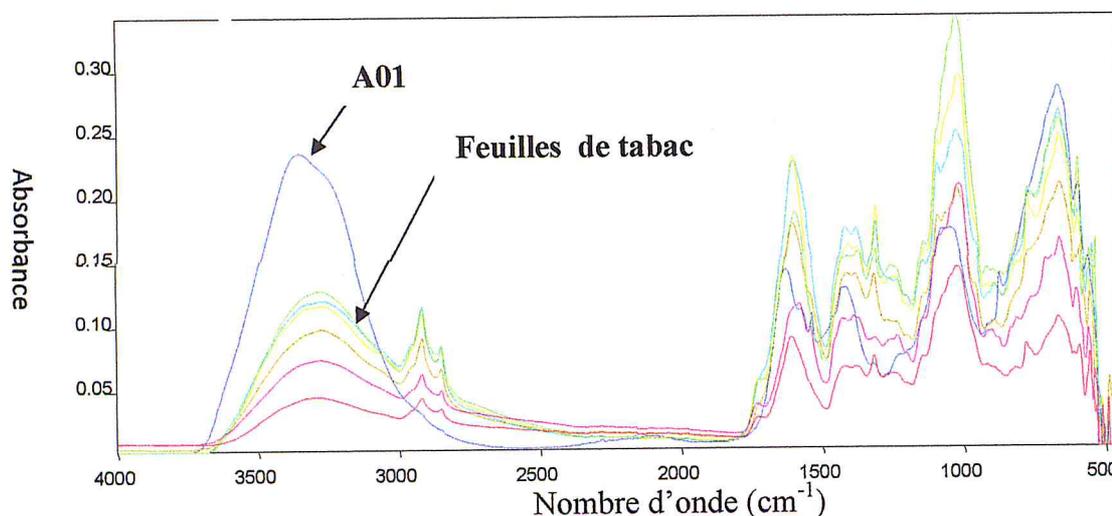


Figure 29: Spectres ATR-IRTF du tabac à chiquer A01 et des différentes feuilles de tabac industrielles

La comparaison des spectres de la figure (29) montre que la seule marque agréée A01 est le produit d'un mélange de deux plantes industrielles au moins.

Nous avons noté aussi une différence dans l'intensité des bandes à 3357 et 665 cm^{-1} ceci peut être lié aux bandes spécifiques des additifs.

Nous avons vérifié aussi le type des plantes industrielles utilisée dans la fabrication de la cigarette. La comparaison des spectres de la « figure 30 » permet d'identifier la plante utilisée pour la fabrication de la cigarette. A titre d'exemple, la comparaison des spectres de la

« figure 31 » montre que la marque commerciale de la cigarette (C.N) est fabriquée avec la plante C.H.C.B.F.04 et que la marque de la cigarette (M.N) est fabriquée avec la plante TVES « figure 32 ».

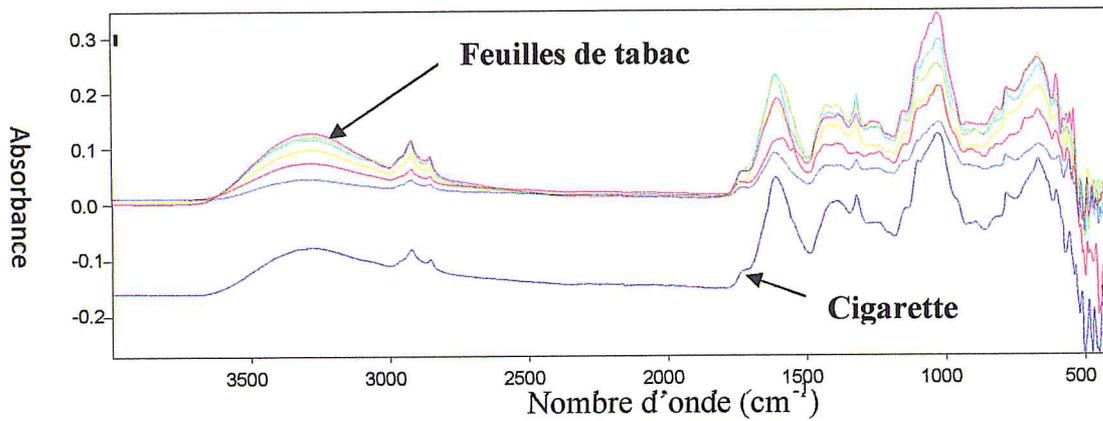


Figure 30: Spectres ATR-IRTF les feuilles de tabac industrielles et cigarette

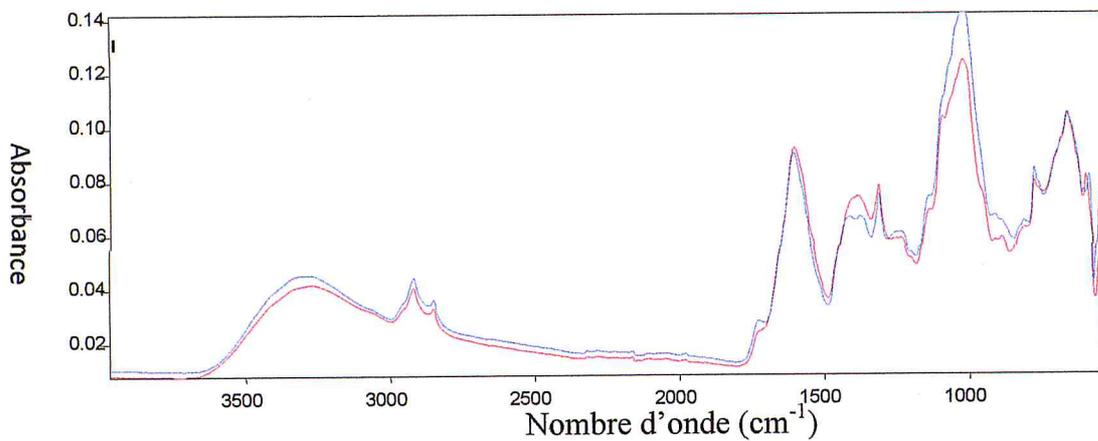


Figure 31: Spectres ATR-IRTF de feuille de tabac (C.H.C.B.F.04) « bleu » et la C.N « rouge »

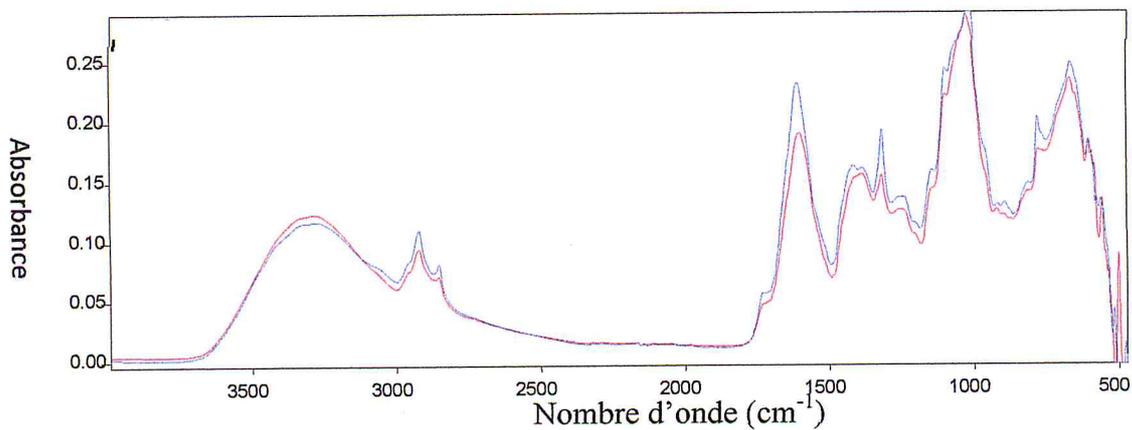
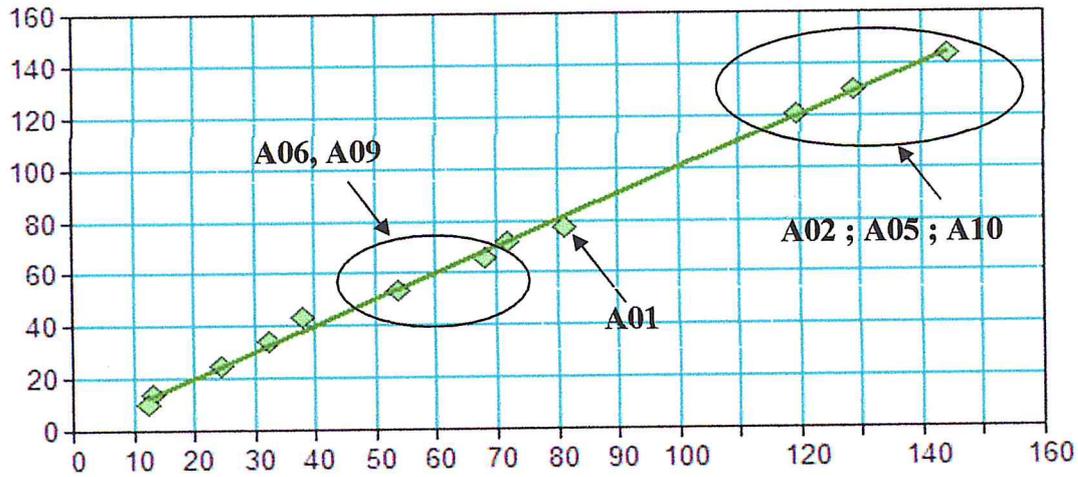


Figure 32 : Spectres ATR-IRTF de feuille de tabac TVES « bleu » et la C.M.N « rouge »

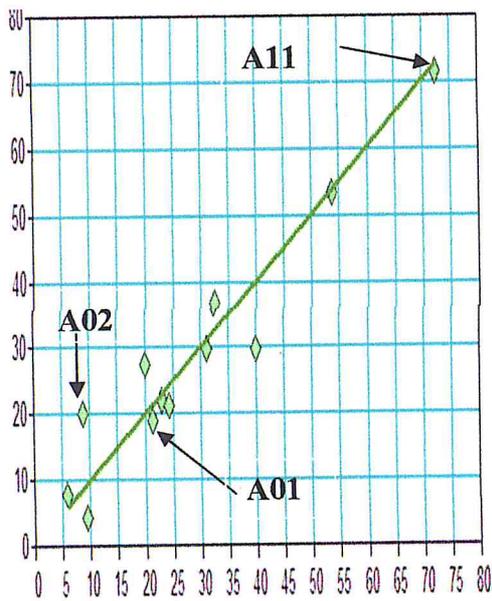
III.3.5. Représentation graphique de la de la répartition des échantillons commerciaux par groupe similaire

Les résultats du tableau 8, montrant le taux des différents groupements fonctionnels, sont exploités dans les représentations graphiques illustrées dans les figures 33 (a-i)

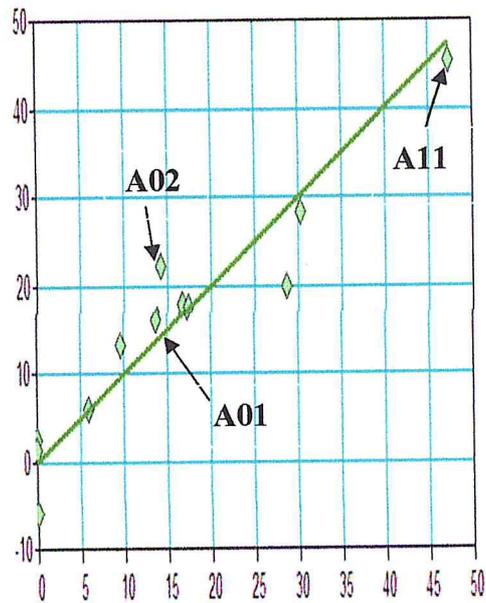
C-O 1048 cm⁻¹ (a)



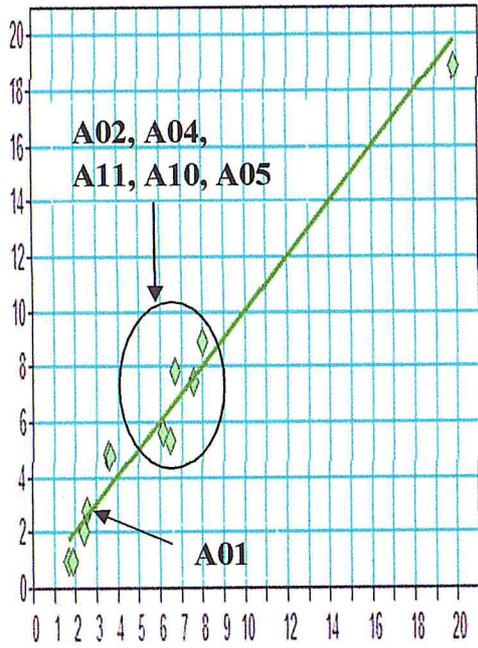
C-N et N-H % 875 cm⁻¹ (b)



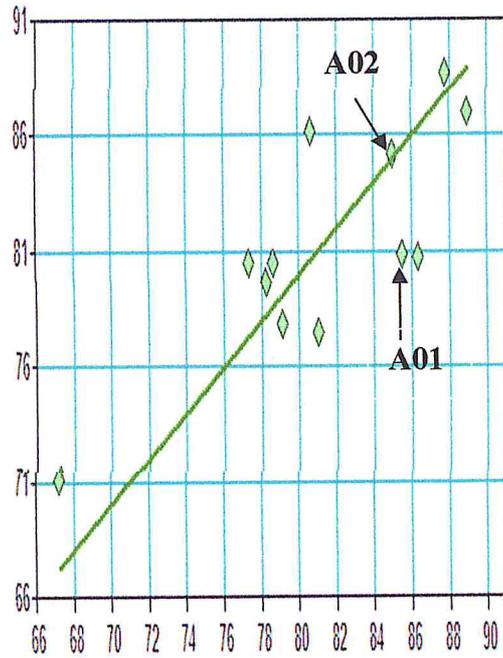
C=C aromatique % 1556 cm⁻¹ (c)



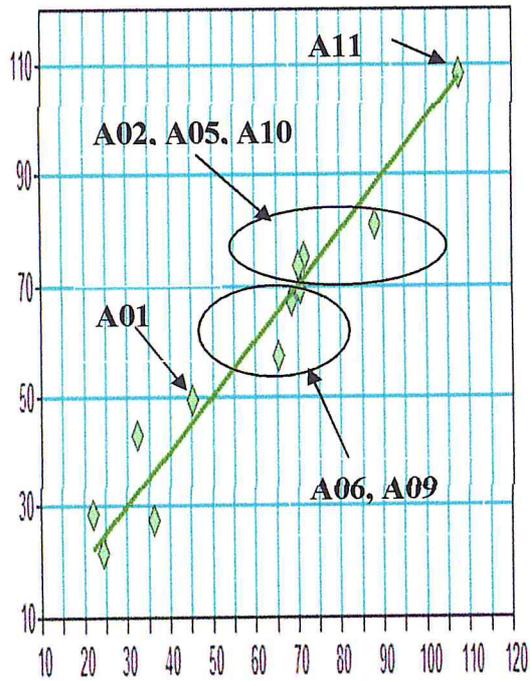
CH₂ et CH₃ % 1554 cm⁻¹ (d)



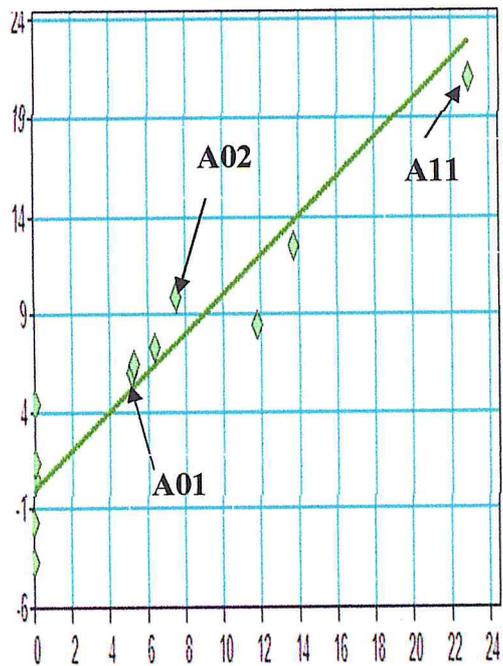
1 H aromatique isole % 665 cm⁻¹ (e)



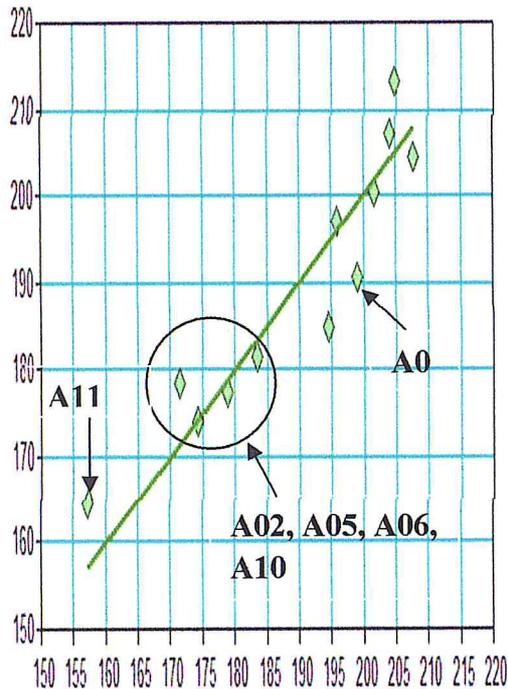
OH Is / phénols % 1419 cm⁻¹ (f)



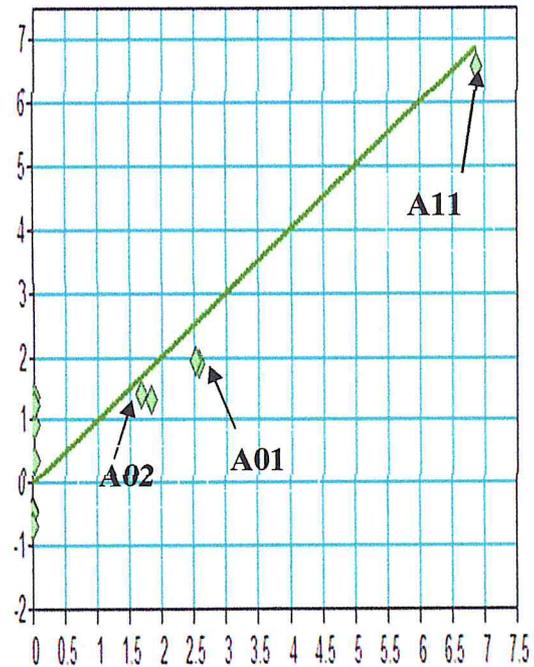
C=C alcène % 1631 cm⁻¹ (g)



OH % 3357 cm^{-1} (h)



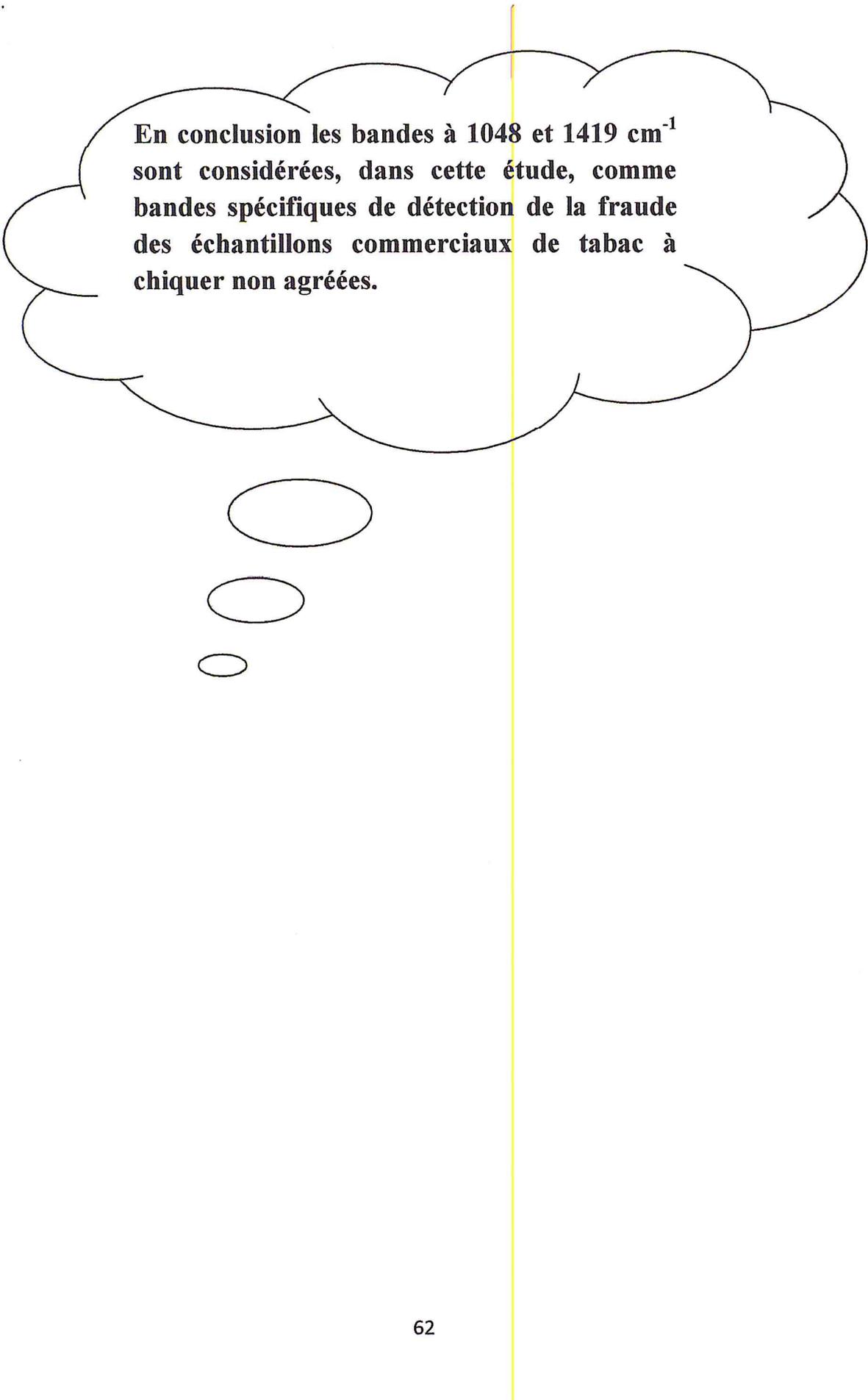
-CH=CH₂ % 891 cm^{-1} (i)



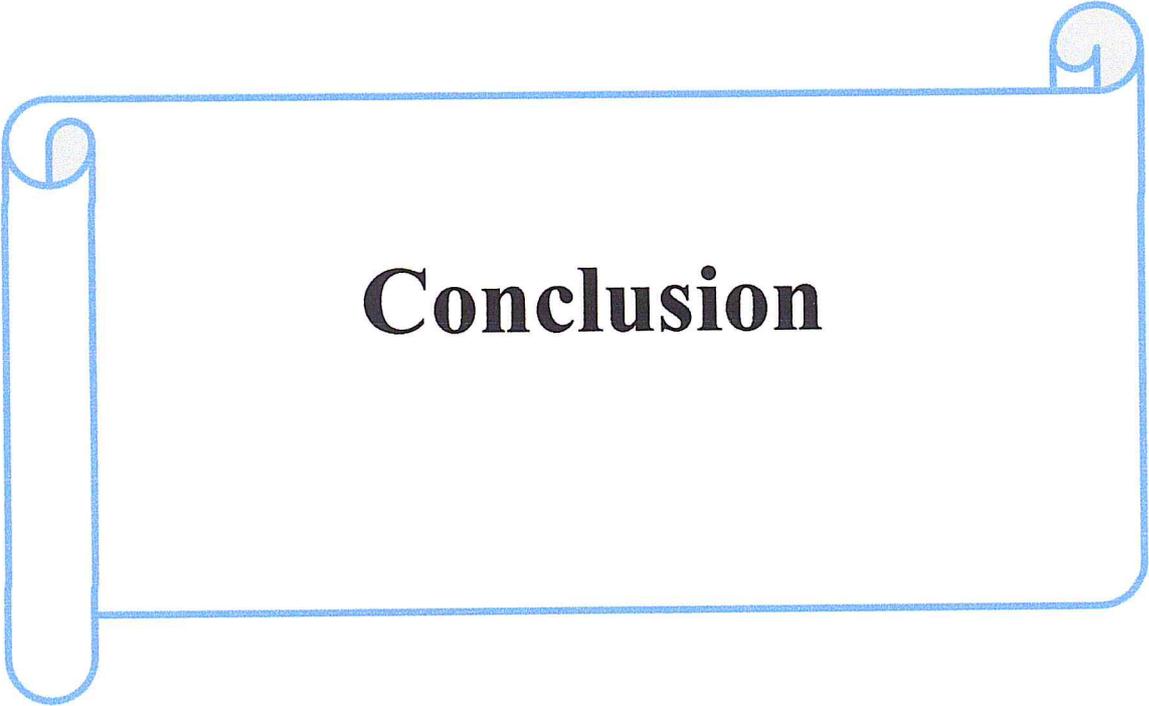
Figures 33 (a-i) : Présentation graphique des taux principaux groupement fonctionnel des différents échantillons commerciaux de tabac à chiquer en utilisant quant 2

Cette représentation permet de visualiser graphiquement les points suivants :

- 1) La différence des deux formes commerciales (A01 et A02) de la seule marque agréée (figures a,d,f,h) : du fait que les deux points correspondant n'appartiennent pas aux mêmes groupes.
- 2) Aucune marque commerciale ne présente la même formulation que la marque agréée A01 : du fait que les figures a-i ne montrent aucune marque qui a tous les taux identique à A01.
- 3) L'échantillon A11 paraît complètement différent des autres marques commerciales paraissant lointain des autres points qui sont représentés dans les figures (b,c,f,g,h,i)
- 4) Effectivement, les bandes à 1048 et 1419 cm^{-1} illustre la différence des échantillons commerciaux (A02-A12) de la seule marque agréée A01, (figures a,f) : du fait que dans ces figures le point A01 apparait seul.
- 5) Les bandes à 1048 et 1419 cm^{-1} illustrent les deux groupes d'échantillons « A02, A05, A10 » et « A06, A09 » présentant la même formulation. Du fait que les points correspondant dans les figures a,f sont regroupés ensemble.



En conclusion les bandes à 1048 et 1419 cm^{-1} sont considérées, dans cette étude, comme bandes spécifiques de détection de la fraude des échantillons commerciaux de tabac à chiquer non agréées.



Conclusion

Conclusion générale

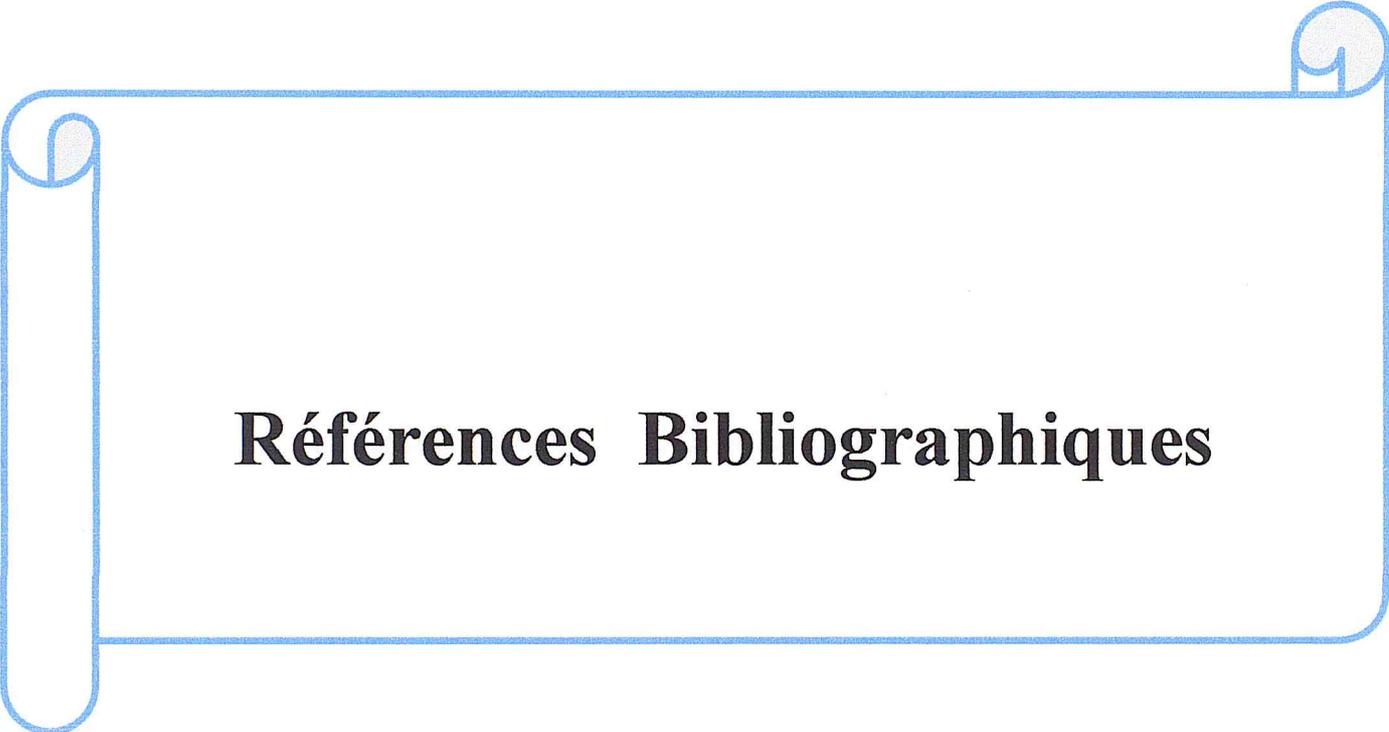
L'objectif principal de ce travail a été consacré au développement de méthodes d'analyse simples et disponibles basées sur ATR-IRTF pour la détection de la fraude et donc cette étude ne nous intéresse particulièrement au tabac à chiquer.

Une synthèse bibliographique importante qui regroupe quelques informations de base sur le tabac et les travaux de recherches développant des méthodes de dosage de nicotine dans le tabac par CG- SM, par HPLC – UV et par analyse en continu couplée au spectre IRTF (IRTF-FIA).

Afin de réaliser une partie expérimentale permettant le développement de méthodes d'analyse simples et rapides pour le contrôle de la conformité et de la qualité des produits tabac commercialisés au niveau du marché national, nous avons commencé par la détermination des paramètres physico-chimiques de tabac à chiquer, des cigarettes, des feuilles de tabac, et des différents additifs, suivie d'une analyse qualitative de différents échantillons de tabac par spectrométrie ATR-IRTF.

- ❖ Les analyses ATR-IRTF, ont montré que : les deux formes commerciales de la même marque agréée (A01 et A02) sont différentes, ceci se confirme avec la différence des prix d'achat dans le marché national, on peut conclure que A01 (150 DA) et la vraie marque agréée alors que A02 (80 DA) est le produit trafiqué.
- ❖ Aucune marque commerciale n'est identique à la seule marque agréée par l'état A01.
- ❖ Les différentes marques commerciales présentent généralement des formulations différentes.
- ❖ La concordance des résultats spectraux obtenus les bandes à 1419 et 1048 cm^{-1} indique que deux groupes d'échantillons « A02, A05 et A10 » et « A06, A09 » présentent pratiquement les mêmes formulations.
- ❖ La comparaison des spectres de l'ATR-IRTF du tabac à chiquer A01 et des différentes feuilles de tabac industrielles montre qu'A01 peut être le produit d'un mélange de deux plantes industrielles au moins.
- ❖ La comparaison des spectres ATR-IRTF des feuilles de tabac industrielles et la cigarette permet d'identifier la plante utilisée pour la fabrication de cette dernière. A titre d'exemple, la comparaison des spectres ATR-IRTF montre que la marque commerciale de la cigarette (C.N) est fabriquée avec la plante C.H.C.B.F.04 et que la marque de la cigarette M.N est fabriquée avec la plante TVES.

- ❖ L'allure similaire des spectres des échantillons commerciaux avec le spectre de feuille de tabac artisanale et les spectres des plantes **ficus carica L**, **ficus carica** laisse supposer que ces dernières sont utilisées pour la préparation de la chique traditionnelle.
- ❖ La différence dans l'intensité des bandes à **3357** et **665 cm⁻¹** ceci peut être lié aux bandes spécifiques des additifs, qui peuvent être du sucre et du glycérol.



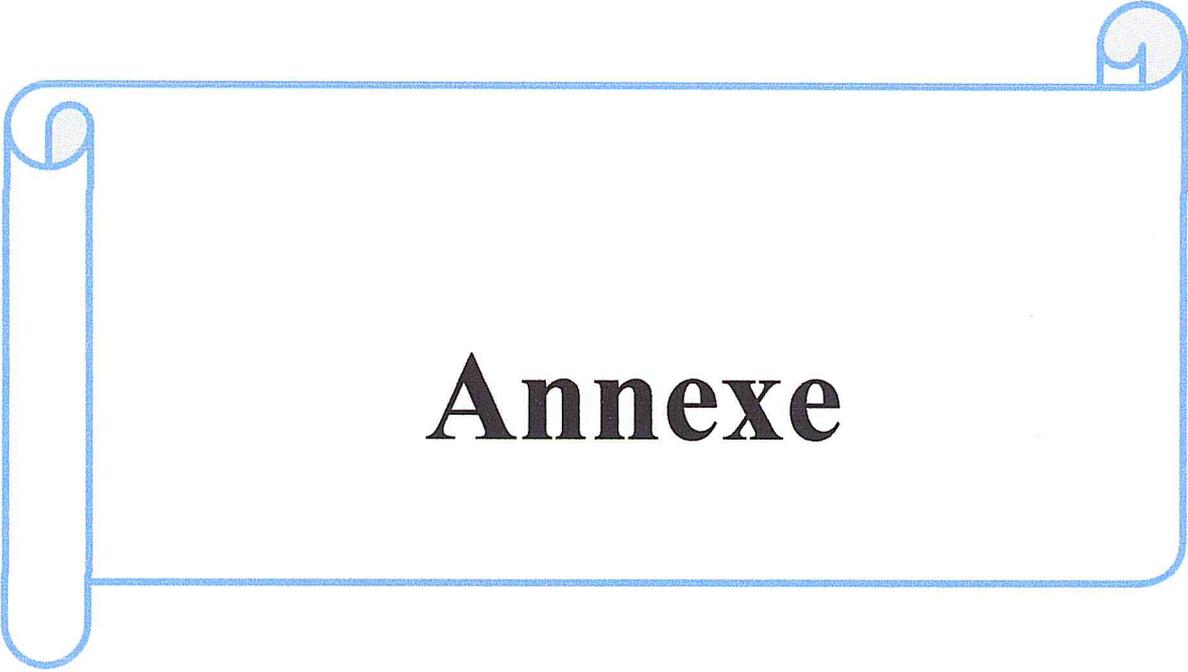
Références Bibliographiques

Références

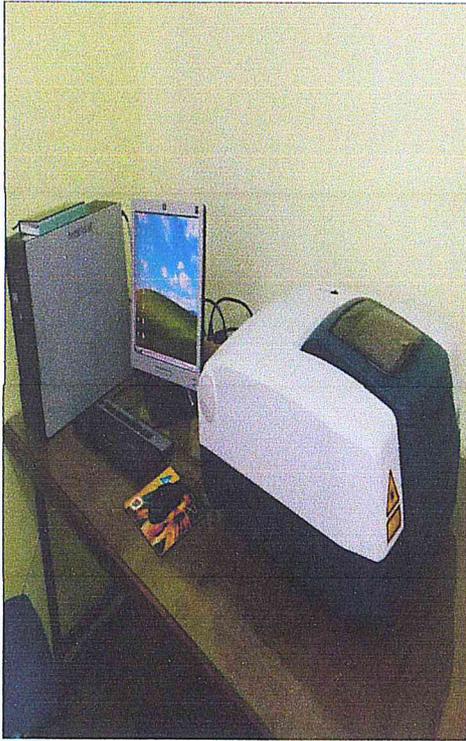
- [1] Schmeltz, I.; Hoffmann, D. Chem. Rev. **1977**, *77*, 295-311.
- [2] Davis D.L. And Nielsen M.T. (1999). tobacco: production, Chemistry and Technology. CORESTA. Blackwell Science Ltd. 467p.
- [3] Tela Botanica. Le réseau de la botanique francophone. Nicotiana tabacum L. 2013. Wwww. tela-botanica. Org/ bdtfx-nn- 44086.
- [4] Rakesh Roshan Mali et al. (2); 2013.
- [5] [http:// www .dutch-headshop. Com /fr/grains -de plant - de -tabac -20- graines - nicotiana tabacum -p-921. Html](http://www.dutch-headshop.com/fr/grains-de-plant-de-tabac-20-graines-nicotiana-tabacum-p-921.html)
- [6] Groark P Kevin, Therapeutic, and Protective Uses of Tobacco (Nicotiana tabacum) among the Tzeltal and TzotzilMaya of Chiapas, Mexico. Journal of Ethnobiology, 2010, 30 ;(1):5-30.
- [7] Orisatoki R. The public health implications of the use and misuse of tobacco among the Aborigines in Canada. Glob J Health Sic 2012; 5(1):28–34.
- [8] Assemblée des Premières nations. Action Plan to Develop a First Nations Tobacco Control Strategy. Ottawa: Assemblée des Premières nations; 2011.
- [9] [http : // tabacsanstabou. Ch/ modes –de- consommation /](http://tabacsanstabou.ch/modes-de-consommation/)
- [10] ZargariA, Medicinal Plants, Tehran University publications, 5, 1992; 3:889.
- [11] France- tabac. Botanique/ variétés .2013. [Wwww France-tabac.com /botanique. Htm.](http://www.france-tabac.com/botanique.htm)
- [12] Lemarchand F, Tassin JP. Le tabac.la recherche. 2009; 430: 83-6.
- [13] VLShaligram, S Nighantubhushanam.,Krishnadas Khemraj Prakashan Mumbai.,4, 2004:908.
- [14] Centre d'expertise collective de l'INSERM Tabac – Comprendre la dépendance pour agir (2004) <http://lesrapports.ladocumentationfrancaise.fr/BRP/064000680/0000>.
- [15] Wynder E.L. & HoffmanD. (1967) tobacco and tobacco smoke, Studies in experimental carcinogenesis. Academic Press. New York and London. 730 p.

- [16] Schlotzhauer W.S. and chortyk O.T. (1981). Pyrolytic studies on the origin of phenolic compounds in tobacco smoke. *Tabaco Science*, 25: 6-10.
- [17] Runeckles V.C. (1963). Tabaco polyphenols II. On the biosynthesis of chlorogenic acid. *Canadian journal of Biochemistry and Physiology*, 41: 2249-2258.
- [18] BATES C, JARVIS M, CONNOLLY G. ASH UK Report. Tobacco additives: Cigarette engineering and nicotine addiction. 1999: 20 p
- [19] Muhammad idrees zaidi, Feroza Hmid Wattoo, Muhammad Hamid Sarwar Wattoo, Syed Ahmed Tirmizi. , et al, Antibacterrial activities of nicotine and its Zinc complex, *Affrican journal of Microbiology Research*, 2012, 6(24):5134-5137.
- [20] GETrease W. CEvans, pharmacology, Bailliere tindall, London, 1996; 113th; 89-122,313-544.
- [21] Anita A Mehta Ravindra G Mali A Review on Anthelmintic Plants, *Natural producth Radiance*, Review paper, 2008; 7(5):466-475.
- [22] DJK Balfour, KO Fagerstrom. Pharmacology of nicotine and its therapeutic use in smoking cessation and neurodegenerative disorders, 1996; 72:51-81.
- [23] Francis P, PalmerA, SnapeM andWilcockG, The cholinergic hypothesis of Alzheimers disease:a review of progress, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1999; 66; 137-47.
- [24] Khalifa A.E: *Hypericum perforatuma* as a nootropic drug, enhancement of retrieval memory of a passive avoidance conditioning paradigm in mice, *J. Ethnopharmacol* , 2001,76;(1), 49-57.
- [25] Sairam K , Rao C. and Goel R, Effect of *Convolvulus pluricaulis Choison* gastric ulceration&secretionisin rats, *Indian J. Exp. Biol* ,2001;39,350-54.29. J Haber. Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Curr Opin Periodontol*, 1994; 1:12–8.
- [26] [http:// www. iso. Org](http://www.iso.Org).
- [27] Amzad M. Hossaaain, Syed M. Salehuddin; 2013, Analytical determination of nicotine in tobacco leaves by gas chromatography – mass spectrometry; *Arabian Journal of Chemistry*, 6, 275- 278.

- [28] Nahid Moghbel, BoMi Ryu, Kathryn J. Steadman, A reversed-phase HPLC-UV method developed and validated for simultaneous quantification of six alkaloids from nicotiana spp. Journal of Chromatography B, [http:// dx. Org /10.1016./j.jchromb. 2015.06.006](http://dx. Org /10.1016./j.jchromb. 2015.06.006).
- [29] Selmar D et al. / Environmental Pollution xxx (2018) 1-5.
- [30] Jose M. Garrigues, Amparo Pérez-Ponce, Salvador Garrigues and Miguel de la Guardia ; 1999 ; Flow injection Fourier transform infrared détermination of nicotine in Tobacco, Analyte, 1999, 124, 783–786.
- [31] M.D. Benedetto, Méthodes spectrométriques d'analyse et de la caractérisation, Génie des Procédés, centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne, 1997.
- [32] A.H. Letting, Infréd technology and applications, SPIE-Proceeding, Ed. Belling WA, London, UK, V.1320, 1990.
- [33] D. Bertrand, E. Dufour, La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, 2006.
- [34] www.perkinelmer.com
- [35] Federal Register. Protocole révisé pour l'analyse de la nicotine, l'humidité totale et le pH dans les produits du tabac sans fumée Vol. 74, n ° 4, 712-719 (7 Janvier 2009)
- [36] A procedure for determination of ^{210}Po in water samples by alpha spectrometry, IAEA Analytical Quality in Nuclear Applications Series No. July 2006.
- [37] [dhaouadiramzi .e.monsite .com](http://dhaouadiramzi.e.monsite.com)



Annexe



Spectrométrie IRTF



Spectrométrie ATR-IRTf



Différente échantillons de tabac à chiquer



Différente feuilles de tabac industrielles



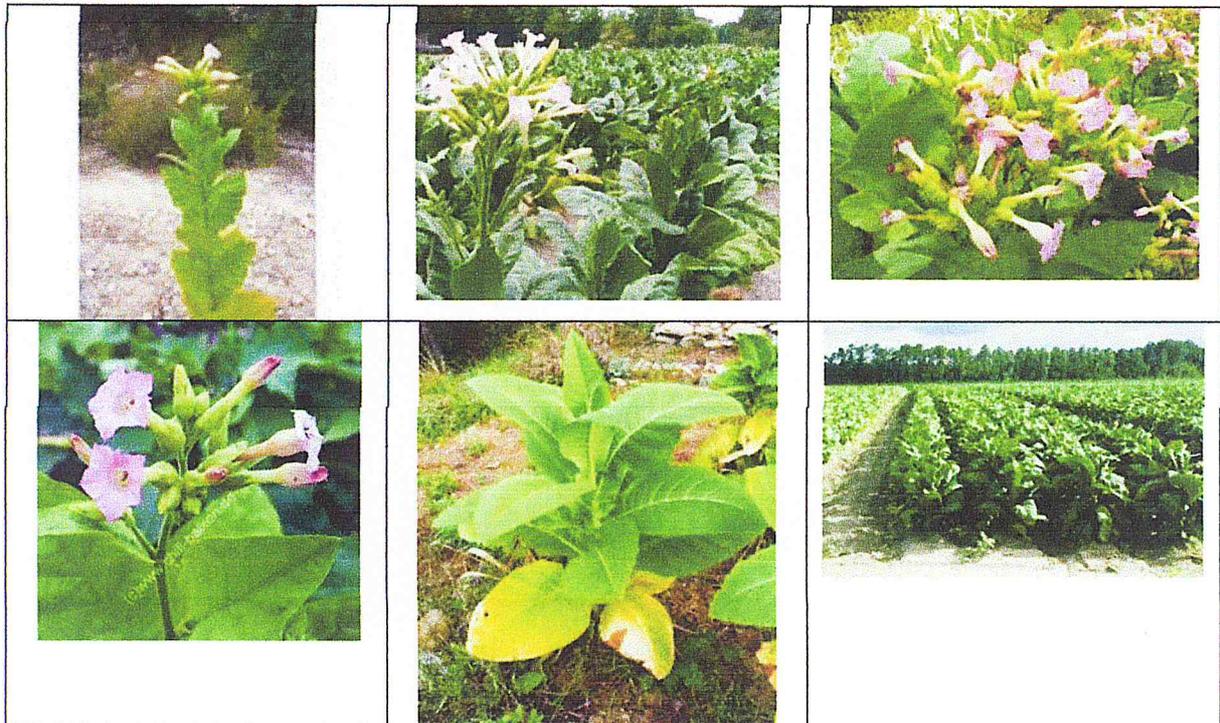
Tabac brun



Tabac virginie



Tabac Burley



Différentes images de la plante nicotiana tabacum